



Doctorado en Biología Celular y Genética
Departamento de Biología

**¿Es factible la búsqueda de factores genéticos implicados
en la elección de pareja en *Drosophila melanogaster*?**

Tesis presentada por **Enrique Turiégano Marcos**
para optar al grado de Doctor.

Tesis dirigida por **Inmaculada Canal Beltrán**

*A la memoria de mi padre,
porque "Lo difícil se hace
y lo imposible se intenta"*

AGRADECIMIENTOS

Lo primero sobre lo que pensé antes de comenzar a escribir esta tesis fue en los agradecimientos. Lógicamente también es lo último que escribo (después del título). Porque, ciertamente, la redacción de la tesis podía haber matizado a quien le tenía que agradecer su ayuda a lo largo de este largísimo periplo.

Desde luego en estos años ha habido mucha gente al lado mío. Y detrás, y delante. Y no es que no quiera agradecerse y ser parte del refrán. Simplemente es que no quiero convertir este espacio en un desfile interminable de personas, ni poner a prueba mi capacidad de quedar bien con todo el mundo. Que, por otro lado, ya se que no es mucha. Así que, de entrada, muchas gracias a todos, sin personalizar. A todos los que os sabéis mecedores de ellas. Que sois muchos.

Esta tesis se gestó como idea, en un extraño arrebato de niño empollón, en Houston. Después, o mientras, me dejaba la que entonces era mi novia pensé que, quizá, era mejor dedicar todas las horas de vida que exige trabajar como investigador a algo que realmente llamase mi atención. Así que, en cierto sentido, ella, Houston y la esclerosis múltiple me han llevaron a este atolladero que ha sido mi tesis doctoral.

La siguiente persona a la que quiero hacer explícito mi agradecimiento, por esto y por todo lo demás (que es mucho) es a mi jefa. A ella le debo que me permitiese adentrarme en esta aventura loca, que me prestase su ayuda, su apoyo y su crítica. Que me dejase inmiscuirme en un terreno farragoso y que estuviese siempre ahí para sacarme del atolladero. Y también que me diese la libertad suficiente para descubrir quien soy y que soy (y no) capaz de hacer. He aprendido mucho y, aunque solo fuera por eso, muchas gracias.

A mis dos novias, que ya no lo son y que, por o pese a ello, han participado activamente en la redacción de esta tesis. A Vir le debo estar escribiendo esto ahora y no dentro de dos meses. Y unas tablas. Y a Ruti muchas, pero muchas, tildes.

Por último, a mi padre y a mi madre. Que han creído en mi cuando nadie, ni yo mismo, podría. Se que hoy mi padre sería el hombre más orgulloso del mundo.

Y nada más. No quiero seguir, porque casi lloro. Ni pienso repasar lo dicho, porque no hay tiempo.

Domingo 8 de Abril.
Universidad Autónoma

Si quieres hacer reír a Dios,
cuéntale tus planes.

Hari Seldon

ÍNDICE

OBJETIVOS	9
INTRODUCCIÓN	13
1.1- <u>Teorías sobre la selección sexual</u>	15
1.2- <u>Bases genéticas documentadas de la elección de pareja y vías de estudio</u>	17
1.3- <u>¿Elige la hembra?: ¿Podemos distinguirlo?</u>	20
1.4- <u>Factores que afectan al éxito reproductivo de los machos</u>	26
1.4.1- El cortejo	27
1.4.2- El tamaño del macho	29
1.4.3- La edad de las moscas	31
1.4.4- El genotipo de las moscas	31
1.4.5- Las condiciones experimentales	32
MATERIAL Y MÉTODOS	37
2.1- <u>Cuidado y mantenimiento de las moscas</u>	37
2.2- <u>Experimentos grabados en vídeo</u>	38
2.3- <u>Experimentos en que compiten en tubo machos de dos líneas diferenciab</u>	39
2.4- <u>Experimentos en que se varía la posibilidad de escoger pareja</u>	40
2.5- <u>La toma de datos</u>	41
2.6- <u>Tratamiento estadístico</u>	42
EFFECTO DE LA TALLA SOBRE EL ÉXITO REPRODUCTIVO	49
3.1- <u>Experimentos no competitivos en la cámara de cortejo</u>	50
3.1.1- Análisis de las variables	50
3.1.2- ¿Es distinta la talla de los animales que copulan?	51
3.1.3- ¿Cómo afecta la talla de los animales al CL?	55
3.2- <u>Experimentos competitivos en la cámara de cortejo</u>	57
3.2.1- Análisis de las variables:	57
3.2.2- ¿Tiende a copular el macho mayor de cada pareja que compite por una hembra?	58
3.2.3- ¿Difiere la talla de los animales que copularon al principio de los que lo hicieron al final?	61
3.2.4- ¿Hay relación entre el CL y la talla de las moscas?	61
3.3- <u>Efecto de la competición entre machos en los experimentos realizados en la camara de cortejo</u>	63
3.4- <u>Experimentos con competición utilizando machos de dos genotipos diferenciab</u>	65
3.4.1- Análisis de las variables	66
3.4.2- ¿Qué distingue los tubos en que hubo cópula?	67
3.4.3- ¿Por qué la hembra copula con un macho y no con el otro?	69
3.4.3.1- Experimentos realizados a 25°C	69
3.4.3.2- Experimentos realizados a 18°C	72

3.5- <u>Efecto de la posibilidad de elegir pareja sobre la talla de la descendencia</u>	75
3.5.1- Análisis de las variables	75
3.5.2- Efecto del aumento del número de machos sobre la supervivencia y fertilidad de las hembras	76
3.5.3- Efecto de la posibilidad de elegir sobre la talla de la descendencia	77
 ¿ELIGE LA HEMBRA EL MACHO CON EL QUE SE APAREA?	83
4.1- <u>Análisis de las variables</u>	84
4.2- <u>Comparando los diferentes experimentos</u>	86
4.2.1- Experimentos sin competición	86
4.2.1.1 <i>¿Por qué desestimamos utilizar la talla?</i>	90
4.2.2- Experimentos con competición entre machos iguales	91
4.2.3- Experimentos con competición entre machos diferentes	95
4.2.3.1- ♂wt/♂cv x ♀cv:	98
4.2.3.2- ♂wt/♂wt sin alas x ♀wt	101
4.2.3.3- ♂wt/♂cv sin alas x ♀cv	102
4.2.3.4- ♂cv/♂wt sin alas x ♀cv	104
 4.3- <u>¿Determina el resultado de una competición las habilidades para copular de los animales cuando no hay competición?</u>	107
4.3.1- Modelo que estima la probabilidad de copular.	108
4.3.2- La posibilidad de considerar la talla: los experimentos de la primera parte.	111
4.3.3- Cómo ajustan las probabilidades estimadas por el modelo a los experimentos en que hay competición.	112
4.3.3.1- <i>¿Cómo estimar la probabilidad de que se dé la cópula en un experimento en que compiten dos machos?</i>	113
4.3.3.2- <i>Comparando las probabilidades estimadas con los resultados experimentales</i>	115
4.3.4- Modelo que estima el tiempo hasta la cópula	120
 DISCUSIÓN	125
5.1- <u>Buscando una característica preferida por las hembras que nos permita realizar una mutagénesis</u>	126
5.2- <u>Cómo elaborar los experimentos para buscar hembras que no prefieran machos grandes</u>	127
5.3- <u>En qué circunstancias no se certifica que copule preferente el macho de mayor tamaño</u>	129
5.4- <u>En qué condiciones tienen mayor probabilidad de copular los machos mayores</u>	131
5.4.1- Experimentos en una cámara de cortejo	135
5.4.2- Experimentos con machos de dos líneas realizados en tubos	141
5.4.3- Consecuencias sobre el tamaño de la descendencia de no permitir a los padres escoger pareja	147
 5.5- <u>¿Podemos asegurar que las hembras escogen su pareja?</u>	152
5.5.1- Conclusiones que podemos extraer al comparar diferentes situaciones experimentales	157
5.5.2- ¿Depende la frecuencia de cópula de la propensión a copular de las hembras?	162

5.6- <u>Algunas consideraciones sobre las variables</u>	167
5.6.1- El tamaño de la mosca	167
5.6.2- Tiempo hasta la cópula (CL)	169
5.6.3- Frecuencia de cópula (MF)	169
5.6.4- La teórica variable control (tanda/mes)	170
 CONCLUSIONES	 173
 BIBLIOGRAFÍA	 177
 FIGURAS	
 TABLAS	

OBJETIVOS

El objetivo de nuestro trabajo era conseguir variaciones genéticas de la capacidad de elegir pareja en la hembra de *Drosophila melanogaster*.

Previamente a la generación de mutantes fue necesario precisar dos aspectos que son, a la postre, los objetivos reales de esta tesis. Por un lado tratar de certificar experimentalmente que la hembra escoge su pareja. Y, en segundo lugar, determinar qué aspectos hacen atractivos (“elegibles”) a los machos y en qué condiciones experimentales se manifiesta mejor esta preferencia.

INTRODUCCIÓN

Todo organismo viviente, consciente o no, esta obligado, por el hecho de existir, a elegir, a “tomar decisiones”. ¿Qué les/nos lleva a tomar una u otra decisión? ¿Hay un programa genético detrás de cada opción que se toma, es aprendizaje, es, digamos, aleatorio?

Durante el último medio siglo las ciencias han hecho diversos intentos para comprender cómo los organismos toman decisiones. Se han obtenido resultados muy fructíferos al vincular la teoría económica con la noción neodarwinista de *fitness*. En estos estudios se trata de entender lo que lleva a un animal a desarrollar un cierto comportamiento investigando las circunstancias evolutivas que, presumimos, han hecho eficaz ese modo de comportarse. En estos modelos basados en la teoría económica, el animal hace el balance considerando riesgos y beneficios de tomar una u otra opción en una determinada decisión. Y los modelos se ajustan sorprendentemente a la realidad. El éxito de estas aproximaciones radica, por tanto, en haber comparado el resultado teórico de lo que al animal le conviene hacer con datos empíricos donde se observa que, efectivamente, eso es lo que el animal hace en su marco natural (Belovsky 1984; Bull y col. 1996). También se ponen a prueba estos desarrollos teóricos en condiciones controladas para evaluar si el comportamiento del animal se ajusta a lo predicho (Krebs y col. 1977). La pega que se puede poner a ese tipo de estudios es que la toma de decisión del animal se produce en circunstancias en las que los costes y beneficios de la decisión son fijos, sin considerar que el momento de tomar la decisión el ser vivo se enfrenta a una realidad variable y compleja en el que todos los participantes pueden tomar a su vez decisiones.

Para solventar este problema aparece a mediados del siglo XX una rama de la matemática/teoría económica que indaga en cómo se toman decisiones en un marco en el que son varios los elementos inteligentes que interactúan, la denominada teoría de juegos. La teoría de juegos presenta los problemas en una forma más dinámica, puesto que la decisión/solución más eficaz ha de considerar las posibles decisiones que pueden tomar el resto de participantes. También los pronósticos de la teoría de juegos se han contrastado experimentalmente con éxito (por ejemplo Harper 1982).

Ambas aproximaciones explican las decisiones de los animales yendo a sus causas últimas. El comportamiento del animal ha sido modelado por la evolución y sus decisiones van encaminadas a maximizar la eficacia del organismo en el contexto de incertidumbre de la naturaleza (revisado en Glimcher 2002). Pero pocos han sido los avances a la hora de determinar los fundamentos biológicos que están implicados en esta toma de decisiones dentro de cada organismo. Poco importa si el comportamiento que se desarrolla es innato o aprendido, evidentemente una parte del sistema nervioso de cada animal ha de estar dedicada a la evaluación de las posibilidades que se presentan, la estimación de riesgos y beneficios de cada opción y finalmente a la toma de una decisión. Y esto

se desconoce tanto a nivel anatómico como celular, aunque se han realizado trabajos indagando esta cuestión (Gallistel y col. 1981; Gallistel 1994; Platt y Glimcher 1999; McCabe y col. 2001).

Nuestro trabajo pretende aproximarse al estudio de la toma de decisiones desde la genética, asumiendo que en la naturaleza hay situaciones en que la toma de una decisión concreta está sometida a una gran presión selectiva. Cuando se da esta situación es esperable que dicho comportamiento esté sujeto a fuertes restricciones que, de algún modo, han de venir codificadas de manera heredable.

La elección de pareja es una decisión crucial en la naturaleza porque afecta fuertemente al éxito reproductivo de un individuo. La pareja con la que cada individuo se cruza determina en gran medida la competitividad y capacidad de adaptación de su descendencia. Por ello resulta, *a priori*, una decisión sometida a fuerte presión selectiva.

Es bien conocido (Bateman 1948; Trivers 1972) que el sexo que más recursos invierte en la descendencia es el más selectivo escogiendo pareja. Debido a que definimos como femenino al sexo que aporta los gametos grandes y con más nutrientes (y, por tanto, más costosos) las hembras son, en principio, el sexo que más recursos invierte en la descendencia. Esta diferencia es más notoria si tenemos en cuenta costes adicionales que en muchas ocasiones también corren a cargo de la hembra, como pueden ser el cuidado de los huevos una vez fecundados, la gestación o los cuidados postnatales (como la lactancia en los mamíferos). Puesto que el coste de su elección es más elevado, las hembras suelen ser más selectivas a la hora de escoger un macho para aparearse. Desde luego esto es una generalidad y existen muchos casos documentados (revisado en Petrie 1983) en que el sexo selectivo es el masculino.

Esta diferencia en los costes de la reproducción es una fuente de conflicto entre individuos de distinto sexo en todo el mundo vivo (con reproducción sexual) excepto cuando el sistema de apareamiento es la monogamia en exclusividad y para toda la vida. En el resto de los casos, aunque cada sexo requiere del otro para procrear, sus “intereses evolutivos” difieren. Lo podemos simplificar del siguiente modo: Los machos tratan de aumentar su éxito reproductivo fecundando a tantas hembras como les es posible mientras que las hembras sufren más restricciones a la hora de producir descendencia, y cada apareamiento improductivo conlleva costes a veces muy arduos de asumir. Estos costes nos inclinan a pensar que, seguramente, las hembras sean más selectivas a la hora de cruzarse que los machos.

Este conflicto produce, en muchas ocasiones, una coevolución antagónica de ambos sexos, en que un sexo desarrolla adaptaciones que favorecen su éxito reproductivo aún en detrimento del otro (Rice 1992, 1996 y 1998; Holland y Rice 1999). Esto produce a su vez la adaptación del sexo

perjudicado para superar esta dificultad y así se establece una “carrera armamentística” entre ambos sexos.

Una evidencia práctica de esta coevolución se describió por primera vez en *D. melanogaster*. Cuando experimentalmente se impide esta coevolución (Rice 1996) la eficacia reproductiva de los machos aumenta pero, además, hacen que la reproducción resulte más perjudicial para las hembras. En un segundo experimento se establecieron dos líneas durante 47 generaciones (Holland y Rice 1999), una forzosamente monogámica y otra poliándrica. El resultado final fue que los machos del linaje monogámico redujeron menos la longevidad de las hembras que los del linaje poligámico mientras que las hembras monogámicas presentaban una supervivencia más reducida al copular con los machos de la población original. Y aunque a este experimento se le pueden achacar que los resultados producidos también los puede causar la endogamia (Sharp 1984) son múltiples los trabajos que respaldan esta coevolución tanto en *Drosophila* (Rice 1992; Chapman y col. 1995) como en otros filos (Byrne y Roberts 2000; Andres y Arnqvist 2001; Wedell 2001; Martin y Hosken 2003).

1.1- Teorías sobre la selección sexual

Encontrar si hay una base genética implicada en la elección de pareja tiene, además, interés en el campo de la teoría evolutiva. Nos acerca al conjunto de teorías que tratan de explicar por qué ciertas características llegan a ser sexualmente atractivas. Son muchos los modelos que han surgido para explicar por qué las hembras pueden tender a preferir unos rasgos en los machos y no otros (tomado de Promislow y col. 1998). Estos modelos, que no son mutuamente excluyentes, son defendidos por diferentes escuelas, que ponen especial hincapié en que sus tesis son las que mejor explican el proceso evolutivo. Este debate está presente en buena parte de la bibliografía (sobre todo reciente) referente a la base genética de la elección de pareja. En general podemos decir que los modelos propuestos se pueden agrupar dentro de cuatro líneas de pensamiento.

Los modelos de selección de la bondad genética (“*good genes*” *models*) asumen que se tiende a escoger rasgos masculinos que denoten honestamente “calidad genética”, pues esto garantiza a la hembra una descendencia más viable (Fisher 1915; Zahavi 1975; Price y col. 1993; Kirkpatrick 1996; Møller y Alatalo 1999). Esto representa para la hembra un “beneficio indirecto”, pues ella no obtiene ventajas directas de ese apareamiento, pero sí su descendencia. Muchos trabajos respaldan esta asociación entre el apareamiento diferencial con machos que presentan alguna característica y la obtención de descendencia más eficaz (Partridge 1980; Taylor y col. 1987; Promislow y col. 1998).

Un segundo bloque de modelos, en los que el hecho de ser elegido no está vinculado a una mayor viabilidad de la descendencia fruto de dicha elección, son los conocidos como modelos basados en los postulados de Fisher (*Fisherian models*). Estos modelos pronostican que a partir de una elección más o menos arbitraria de la hembra y si tanto el rasgo elegido por la hembra como la tendencia a elegir ese rasgo son heredables, la elección de machos con esa característica concreta llega a ser el motivo principal para escoger macho en esa población (Fisher 1930; Pomiankowski y col. 1991; Anderson 1994). Es un modelo basado también en beneficios indirectos pues lo que la hembra logra eligiendo ese carácter es que su descendencia lo porte, siendo por tanto elegida más frecuentemente (produce “hijos sexys”).

Un tercer motivo de elección puede ser la obtención de beneficios directos que el macho le proporciona (Price y col. 1993), desde los regalos nupciales (Anderson 1994; Vahed 1998) al compromiso directo en los cuidados a la descendencia (Tallamy 1984). Los rasgos que denoten que un macho tiende a proporcionar estos beneficios serán los preferidos. Una vuelta de tuerca adicional a esta búsqueda de beneficios directos se basa en los experimentos que hemos descrito previamente sobre los costes de la copula para la hembra. Y sugiere que la hembra en muchos casos no busca tanto resultar beneficiada al aparearse sino lo menos perjudicada posible (Holland y Rice 1998; revisado en Chapman y col. 2003).

Por último tenemos una serie de modelos que sugieren que los machos podrían desarrollar sus encantos aprovechando alguna desviación de la percepción preexistente en las hembras a la hora de detectar mejor estímulos de algún tipo (Ryan 1990; Ryan y Rand 1993; Ryan 1998). Cuando un macho se hace más presente gracias a este desarrollo aumenta su éxito reproductivo y con ello la frecuencia de ese “carácter fácilmente detectable” en la población.

Los intentos de demostrar empíricamente cuál de los diferentes enfoques es el adecuado han sido infructuosos, debido a que los resultados que se obtienen, al menos en lo referente a los caracteres masculinos, pueden ser predichos por cualquiera de los modelos (Friberg y Arnqvist 2003). Por ejemplo, una vez que se demuestra que un rasgo de un macho es atractivo para la hembra es muy difícil distinguir si confiere algún beneficio en sí mismo (directo o como ventajas para la descendencia) o si bien, aunque en un principio fue escogido por azar, sólo machos con buen *fitness* pueden tolerarlo (el efecto negativo de un rasgo se toma muchas veces como un marcador honesto de bondad genética).

Si nos centráramos en las consecuencias sobre la hembra en principio debería ser más sencillo decantarse por alguna opción, puesto que la selección resulte perjudicial para la hembra sólo lo prevé una de las teorías (Friberg y Arnqvist 2003). Pero mientras que algunos experimentos demuestran que la posibilidad de elegir es nociva para las hembras (Holland y Rice 1999, con

selección artificial; Friberg y Arnqvist 2003, sin selección) en otros las hembras seleccionadas en cruces poligámicos son más saludables que las monogámicas (Promislow y col. 1998). Evidentemente entre estos experimentos hay sutiles diferencias de diseño que pueden justificar los diferentes resultados obtenidos (Brooks y Jennions 1999).

Muy probablemente los rasgos preferibles de los machos tengan, a la vez, efectos beneficiosos y perjudiciales y sea un balance entre unos y otros lo que se da en la naturaleza. Los efectos negativos han de verse compensados en algún sentido, aunque lo desconozcamos. Un buen ejemplo es que pese a los costes en duración de la vida que muchas veces implica cada copula para las hembras (Rowe y col. 1994; Chapman y col. 1995; Crudginton y Siva-Jothy 2000; Blanckenhorn y col. 2002; Martin y Hosken 2003), es muy frecuente en especies animales de todos los filos que las hembras practiquen la poligamia (Arnqvist y Nilsson 2000; Jennions y Petrie 2000).

Hallar algún gen o genes vinculados a la elección podría suponer dar un primer paso para demostrar qué rasgos del macho varían con dicha elección. Ver cómo se seleccionan diversos rasgos masculinos ante hembras incapacitadas para elegir nos dará la pista sobre la posible coevolución entre genes que denoten un rasgo masculino y una preferencia femenina. En cualquier caso es improbable, pese a los esfuerzos de cada una de las escuelas, que podamos restringir el motivo último de dicha correlación, si se originó por un evento más o menos aleatorio y vinculado o no a beneficios reproductivos.

1.2- Bases genéticas documentadas de la elección de pareja y vías de estudio

Independientemente de que la elección de pareja la motive los efectos en la supervivencia/eficacia de la descendencia o beneficie a la propia hembra, o de que se efectúe de un modo activo o más o menos pasivo, parece claro que dicha elección existe y muy posiblemente resulta trascendental para cada organismo. Es por ello que la elección de macho viene determinada genéticamente y así se demuestra en diversos animales como las mariquitas, los *guppies* o las moscas de ojo estrecho (revisado en Bakker y Pomiankowski 1995).

En general la preferencia de las hembras se suele estimar a dos niveles, uno poblacional y otro individual (de cada hembra). Con el estudio poblacional, que es el que se utiliza más comúnmente (Wagner 1998), obtenemos como resultado las preferencias sexuales medias de los individuos de una población. Esto nos indica a qué nivel y con qué intensidad se ejerce la selección

sexual sobre el otro sexo pero, sin embargo, nos enmascara la posibilidad de que haya diferentes modos de seleccionar dentro de la población (Chenoweth y Blows 2006). Además no nos permite distinguir las posibles variaciones en la elección que ejerce cada hembra de la variación entre unas hembras y otras.

Por otro lado, medir las preferencias individuales es muy complicado (Wagner 1998). Sobre todo cuando es imposible separar la elección de pareja de la cópula y esta cópula modifica la motivación de la hembra para sucesivas evaluaciones de su interés. Cuando esto ocurre, como es el caso que nos ocupa, es imposible tomar medidas repetidas de la elección que en cada momento hace una hembra. La solución a este problema es la utilización de animales genéticamente idénticos y entender la variación dentro de cada línea como variedad individual. De este modo todas las variaciones que encontramos en la población isogénica pueden, con ciertas restricciones, asimilarse a variaciones comportamentales de un mismo individuo.

Cuando algo está determinado genéticamente (al menos parcialmente) dos son las posibles líneas de investigación desde el punto de vista de la genética. Por un lado están los estudios de genética cuantitativa, que tratan de encontrar qué parte de la variación del fenotipo es heredada, y por otro los estudios de genética clásica, donde lo que se trata es de encontrar los genes concretos que afectan a un carácter (normalmente mutándolos).

La genética cuantitativa considera los comportamientos como rasgos multigénicos, en que multitud de genes están implicados, añadiendo cada uno pequeñas variaciones al fenotipo final. El método habitual para demostrar qué parte de la variabilidad que encontramos en el comportamiento se sustenta en diferencias genéticas es aplicar la selección artificial, normalmente bimodal. Esta selección de la elección de pareja se ha aplicado en multitud de ocasiones, sobre todo cuando el rasgo seleccionado por la hembra es fácilmente identificable. El resultado más claro se ha obtenido trabajando con la mosca malasia de ojo estrecho (*Cyrtodiopsis dalmanni*), en la que el tamaño del ojo con respecto al del cuerpo resulta extremadamente atractivo. Esta atracción de las hembras por un rasgo tan concreto puede ser sometida a experimentos de selección artificial y generar líneas de animales que prefieran ojos pequeños (Wilkinson y Reillo 1994). También ha quedado probada la base genética de la elección de macho aplicando selección artificial, aunque posteriormente fueron criticados, en los estudios realizados con mariposas (Majerus y col. 1986; Kearns y col. 1992) y con *guppies* (Houde 1994, Hall y col. 2004).

En *D. melanogaster* también se han realizado multitud de estudios aplicando selección artificial, pues como organismo modelo presenta innumerables ventajas para investigar con él (como la secuenciación del genoma). Sobre estas líneas seleccionadas artificialmente se puede

aplicar, como ha ocurrido con el comportamiento sexual del macho, estudios buscando QTL (quantitative trait loci, es decir, identificación de localizaciones cromosómicas que contribuyen a la varianza aditiva del rasgo) (Moehring y Mackay 2004) e incluso *micro-arrays* que identifiquen exactamente las diferencias de expresión de diversos genes entre las líneas barajadas (Mackay y col. 2005). Utilizando esta clase de aproximación se han identificado factores en el cromosoma tres que genéticamente afectan, si no a la capacidad de elegir, a la de regular que se produzca la copula.

Sin embargo, y tal como ha ocurrido con otros comportamientos (Gleason y col. 2002), los estudios de genética cuantitativa revelan el efecto de multitud de genes que no son los mismos que se conocía que afectaban al comportamiento y que habían sido hallados mediante métodos tradicionales (mutagénesis, en el sentido más amplio). Esto es debido, básicamente, a las diferencias de lo que se busca al utilizar uno y otro método. Los genes hallados mediante mutagénesis son los que producen un efecto más severo sobre el comportamiento, pues la manera de seleccionarlos suele ser una modificación radical, y por tanto apreciable, del mismo. Por otro lado la aproximación cuantitativa lo que nos muestra son los elementos genéticos sujetos a variaciones dentro de un rasgo. Esto implica que en la población debían existir polimorfismos antes de que comenzase la selección. Normalmente cuando un gen es crucial para un determinado comportamiento no presenta formas polimórficas que puedan ser seleccionadas en ningún sentido en una población. Por tanto, las aproximaciones basadas en la búsqueda de diferencias entre poblaciones/líneas que presentan una cierta variación en un comportamiento, ya sean por mapeo cromosómico o genómicas, fracasan en la búsqueda de estos genes “esenciales” (de Belle, 2002).

No hay muchos estudios que hayan explorado la variabilidad genética en las poblaciones de la elección de pareja, quizás por su complejidad. La preferencia sexual es, a fin de cuentas, una norma de reacción, una respuesta dada a un gradiente de señal emitida por el macho. Dicha señal depende, al menos en *Drosophila*, de multitud de estímulos que sólo podemos controlar en cierta medida. Por ello resulta imposible realizar medidas repetidas para un nivel de estímulo. Replicar exactamente la intensidad de la señal masculina necesaria para medir cambios sutiles en la preferencia de la hembra esta fuera de nuestras posibilidades.

Los estudios de genética clásica se basan en el efecto que provoca sobre el comportamiento interferir en la expresión de un gen, de modo que todo cambio fenotípico es atribuible al cambio en un único gen. Esta aproximación tampoco esta exenta de problemas (de Belle 2002). Por un lado el modo de selección sólo permite aislar genes cuyo malfuncionamiento no produce efectos letales. Y muchas veces descarta mutaciones de efectos pleiotrópicos a la vez que tiende a ignorar genes redundantes. Además los efectos que suelen hallar suprimen totalmente o afectan muy gravemente al comportamiento y es imposible discernir en que sentido exacto lo están afectando. La eficacia del

método es, por tanto, algo limitada. Sólo hay que considerar el hecho de que, en el momento en que se secuenció el genoma completo de *Drosophila*, sólo el 18% de los genes (unos 2500 de 13600) se habían identificado por métodos clásicos (Mackay 2001).

Por otro lado al no tener necesidad de cuantificar la elección no hay problemas con la reproducción de la intensidad de la señal a la que responde el comportamiento. Simplemente certificar la desaparición de la elección es suficiente, siempre teniendo en cuenta que lo que se haya modificado no sean las capacidades perceptivas o motoras del animal.

Respecto al comportamiento sexual de la hembra se han aislado varias mutaciones que disminuyen su receptividad, como son *spinster* (Suzuki y col. 1997), *chaste* (Yamamoto y col. 1997) o *dissatisfaction* (Finley y col. 1997). Sin embargo no podemos afirmar que dichas mutaciones afecten a la hembra en su capacidad de elegir.

Todo esto nos deja el siguiente planteamiento de trabajo: la búsqueda de genes que afecten sustancialmente a la elección de la hembra (y no a las variaciones poblacionales) evaluando la capacidad de elegir utilizando linajes de moscas casi genéticamente idénticas (lo que nos permitirá hacer medidas reiteradas del mismo comportamiento sin tener que considerar si estamos detectando la variación dentro de la línea) mutadas al azar.

1.3-¿Elige la hembra?; ¿Podemos distinguirlo?

Hasta este momento nos hemos estado refiriendo, a lo largo de los diversos trabajos que hemos estado mencionando, a la elección de pareja en un sentido laxo. Estos autores se refieren normalmente con elección al hecho de que la hembra se aparee preferentemente con machos que presentan alguna característica dada. En general a muchos autores no les interesa el sentido de elegir más allá de esto (Friberg y Arnqvist 2003).

Sin embargo, ¿que quiere decir en realidad elegir? En un artículo escrito a finales de los 80 por varios de los principales investigadores que trabajaban estudiando la selección sexual (Heisler y col. 1987, tomado de Wagner 1998) se define elección de la hembra como “el apareamiento diferencial de la hembra como consecuencia de sus preferencias”. En esta definición se reconoce que el apareamiento diferencial se puede producir por alguna otra causa que no es la elección, causas que hace tiempo que han sido reconocidas y estudiadas por la teoría evolutiva. Darwin ya hizo una distinción entre lo que podemos denominar competición intrasexual (la competencia entre individuos del mismo sexo) y selección intersexual (donde lo que prima es la capacidad de ser escogido como pareja por un miembro del otro sexo). Es fácil encontrar en la bibliografía casos en

los que la competencia directa entre machos es lo determinante para que un macho dado (el vencedor) logre fecundar a una hembra. Sin embargo pocos estudios se enfocan en que lo determinante sea la preferencia de la hembra por uno u otro macho (Andersson 1982; Majerus y col. 1982). La elección intersexual y la competencia intrasexual no son mutuamente excluyentes. Es más, en multitud de casos (Halliday 1983) está documentado que la elección intersexual y la competición entre animales del mismo sexo ocurren simultáneamente. El que estos dos fenómenos se den a la vez no facilita la diferenciación entre una causa u otra a la hora de determinar quien se cruza. Y esto es especialmente problemático en nuestro caso, en el que el foco de interés es la elección.

En *Drosophila*, en principio, que se de la elección es factible en tanto que la hembra tiene en su mano la decisión última sobre si se produce o no la copula. Que esto es así se atestigua en tres sentidos. En primer lugar la hembra tiene muchos mecanismos para impedir la copula (Cook 1975; Aigaki y col. 1989; Wolfner 2002). Estos mecanismos para evitar la copula los desarrollan por un lado las hembras inmaduras y por otro las recién copuladas (Ewing y Ewing 1984) y se describen más adelante.

Un segundo motivo que nos indica el potencial de la hembra para impedir o fomentar la copula reside es la existencia de mutaciones que pueden aumentar la velocidad o la frecuencia con que ésta se produce, como en las hembras *raised* (McRobert y col. 1995), o disminuirla, como las ya mencionadas *spinster*, *chaste* o *dissatisfaction* (revisadas en Yamamoto 1997).

Por último, en varios trabajos se atestigua que la hembra pone el límite a la duración del cortejo (Casares y col. 1993; Mackay y col. 2005) en líneas seleccionadas, tanto de machos como de hembras, según su velocidad de apareamiento. El que la receptividad femenina pueda ser objeto de selección (Manning 1961 y 1968; Piñeiro y col. 1993; Mackay y col. 2005) atestigua, además, que hay una base genética que regula la velocidad y/o frecuencia de las copulas, puesto que esa característica puede ser seleccionada.

Todo lo afirmado parece indicar que cualquier apareamiento es fruto de la decisión de la hembra de aparearse. Pero, aún cuando esto sea cierto (Markow 2000), el que la hembra elija copular no es exactamente lo mismo que el que ella esté eligiendo con quien esta copulando. Cuando observamos un apareamiento real en el que la hembra se encuentra con varios machos es muy difícil distinguir si lo que determina el apareamiento es finalmente una elección de la hembra o una competición, más o menos obvia, entre los machos (Halliday 1983; Partridge y Halliday 1984). La idea más asentada es que cuando una hembra se encuentra en disposición de copular con

diferentes machos, ésta simplemente copula con el macho más competente, en función de sus méritos, sean los que sean (Partridge, Ewing y Chandler 1987).

Son varias las líneas de investigación que aseguran haber encontrado la elección de macho por parte de la hembra en *D. melanogaster*. A continuación pasamos a describir críticamente cada una de estas líneas.

Una considerable cantidad de trabajo respaldando el hecho de que la hembra de *Drosophila* escoge se ha desarrollado alrededor de la idea conocida como “ventaja del macho minoritario” (*rare male mating advantage*). Así mismo son muchos los trabajos que han criticado estos resultados a lo largo del tiempo, por cuestiones de diseño experimental o estadístico, hallando en ocasiones dificultades para reproducir resultados ya publicados o encontrando situaciones en las que tal ventaja no existe (revisado en Spiess 1982; Knopien 1984; Singh y Sisodia 2000).

El fenómeno (tomado de Spiess y Carson 1981) consiste en lo siguiente: cuando una población de moscas vírgenes esta constituida por hembras y machos de dos tipos en diferente frecuencia, las hembras reconocen los dos tipos de machos presentes y su receptividad cambia a favor del tipo minoritario de machos. La hipótesis de cómo se ejerce esta selección es la siguiente (también de Spiess y Carson 1981): una hembra receptiva tiende a ser condicionada en su elección por el primer macho que la corteja, de modo que tiene a preferir a machos que difieren de éste en algún elemento o característica de su cotejo.

Este tipo de selección fue referida por primera vez en *D. melanogaster* por C. Petit en 1959. El mismo fenómeno fue posteriormente documentado por Lee Ehrman en *D. pseudoobscura* y a día de hoy se ha descrito al menos en otras 10 especies del genero *Drosophila*. Estos experimentos han sido criticados tanto a nivel de diseño del experimento (por ejemplo el efecto del marcaje de las moscas, en Bryant y col. 1980; Kence 1986) como a nivel del tratamiento matemático/estadístico de los resultados (Partridge 1989). En muchos de ellos se utilizan marcadores genéticos en los machos, ignorando posibles efectos pleiotrópicos sobre la habilidad de los machos para aparearse. Por otro lado, los experimentos se realizan en espacios muy reducidos, con lo que las hembras no tienen ninguna oportunidad de evitar al macho (Ewing 1983), aunque este defecto es atribuible a muchos otros trabajos. Y por último y más determinante, algunos experimentos han sido imposibles de reproducir en otro laboratorio (Markow 1978; Partridge y Garner 1983) o se ha conseguido dar explicación a la ventaja obtenida por mecanismos ajenos a que los machos estuvieran en menor proporción (Markow 1980; Kence 1981; Partridge y Hill 1984). Por todas estas razones, aún teniendo en cuenta que muchos autores aún confían en que tal modo de selección ocurre (Som y

Singh 2001), no nos pareció oportuno estudiar las bases genéticas de la elección femenina utilizando este modo de selección como patrón.

Hay otro conjunto de artículos, vinculados al esclarecimiento del papel de las feromonas durante el cortejo, en los que se describe la elección de macho por parte de la hembra. Las feromonas tienen un importante papel en el comportamiento sexual de *Drosophila*, elicitando o inhibiendo determinados comportamientos tanto en machos como en hembras (revisado en Ferveur 2005). Multitud de estudios avalan la importancia de las feromonas de la hembra durante el cortejo, pues fomentan el canto nupcial (Antony y Jallon 1982; Jallon 1984; Antony y col. 1985). Además se han visto recientemente implicadas en el aislamiento reproductivo entre especies de *Drosophila* (Coyne y col. 1994; Coyne y col. 1999; Savarit y col. 1999; Fang y col. 2002; Greenberg y col. 2003).

En los trabajos en los que se describe la elección por parte de la hembra (Jallon 1984; Scott 1994) se utilizaron dos líneas de moscas salvajes, Canton-S (Cs) y Tai-Y (Tai). Los machos de estas dos líneas presentan un perfil diferente de hidrocarburos cuticulares. Estos hidrocarburos actúan como feromonas de contacto o en distancias muy próximas (Ferveur 1997). Cuando se emparejan machos y hembras de cada una de las líneas se observa que las hembras Cs se aparean con menos frecuencia con machos Tai que con Cs, mientras que el número de apareamientos de las hembras Tai con machos de una u otra línea es el mismo. También la velocidad de apareamiento es significativamente mayor. Sin embargo en experimentos en que la hembra ha de elegir entre dos machos, la hembra no prefiere a unos sobre otros. Esta preferencia se localizó genéticamente en el cromosoma tres.

Los resultados de este estudio no son entendidos como indicadores de que existe elección por algunos autores (Cobb y Ferveur 1996). Pese a que la intensidad de cortejo por parte del macho era la misma en ambos tipos de cruces (Scott 1994; Scott 1996), alegan que estos resultados se pueden explicar si lo que varía es lo atractivas que resultan para los machos las hembras de una u otra línea y no tanto que ellas demuestren preferencias. Es decir, que los machos de la línea Tai no sólo tienen afectado su perfil feromonal, sino también el tipo de perfil de las hembras que los atrae.

Esta duda se agrava a la luz de descubrimientos posteriores. Hay experimentos que vinculan los genes necesarios para la síntesis de estos hidrocarburos cuticulares con la percepción de los mismos (Marcillac y col. 2005 a y b). La falta de función en una desaturasa (*desat1*) provocó no sólo un cambio en las feromonas en la hembra (que las hizo indistinguibles de un macho para un macho wt bajo luz roja) sino también un cambio en la capacidad de distinguir feromonas por parte de los machos mutantes para *desat1*, puesto que confundían machos y hembras wt. Esta vinculación cimienta la posibilidad de que sean válidas tanto la explicación dada por Scott a sus resultados

(presentados en Scott 1994) como la de sus críticos (Cobb y Ferveur 1996). Las líneas que presentan un perfil feromonal diferente pueden tener, además, afectada la capacidad de distinguir. Es decir, puede que una hembra prefiera machos con un perfil dado o bien que los machos de ese perfil les cueste identificar a las hembras como tales.

Las dudas de que se produzca elección o no unidas a la vinculación de las feromonas, al menos las femeninas, no tanto con matices que puedan hacer más interesante una u otra pareja sino con la distinción entre machos y hembras (Marcillac y col. 2005b) o entre animales de diferentes especies (Coyne y col. 1994; Coyne y Oyama 1995) hacen que modificar el perfil feromonal no sea, desde nuestro punto de vista, el sistema preferible para investigar las bases genéticas de la elección de pareja.

Un tercer bloque de trabajos en los que también se encuentran indicios de que la hembra selecciona al macho investiga la especiación a causa del aislamiento sexual. Hembras de una población de *D. melanogaster* de Zimbawe (Z) muestran preferencia por machos de esa misma población antes que por machos cosmopolitas (C), tanto en experimentos en los que tienen la posibilidad de optar entre varios machos como en aquellos en que se mide la frecuencia de cópulas con uno u otro tipo de macho sin la presencia de ningún competidor. En el cruce inverso, es decir, hembras C eligiendo entre machos Z o C, no hay una elección tan marcada (Wu y col. 1995). Los análisis de sustitución cromosómica ubican QTL (*Quantitative Trait Loci*) responsables de la discriminación de las hembras Z de nuevo en el cromosoma tres (Hollocher y col. 1997), aunque también ubican en ese cromosoma los QTL responsables de lo que sea que hace atractivos a los machos Z para las hembras Z. Un análisis pormenorizado dentro del cromosoma tres (Ting y col. 2001) nos dice que al menos dos, y muy probablemente tres, regiones dentro de este cromosoma están implicadas en la determinación genética de la elección de la hembra, aunque estos resultados están parcialmente complicados por los posibles efectos pleiotrópicos de los marcadores utilizados para mapear.

Y aunque ésta es la posibilidad más prometedora que denota una determinación genética de la elección de la hembra merece la pena considerar que, al contrario de lo que podría parecer, últimamente se ha demostrado que los genes que controlan las diferencias interespecíficas en rasgos de interés sexual no son los mismos que son responsables de las variaciones intraespecíficas de esos mismos rasgos (Gleason y Ritchie 2004; Gleason 2005). Por lo tanto encontrar genes vinculados a la selección sexual buscando diferencias interespecíficas puede no servirnos para identificar las bases de la elección de pareja dentro de su especie. Y aunque las moscas de la población Z no son una especie, la mayoría de los autores citados sí la consideran una población en proceso de

especiación (Kauer y Schlötterer 2004), sobre todo si se toman en cuenta las enormes diferencias en el genoma que existen entre las dos líneas (Begun y Aquadro 1993).

Toda esta serie de resultados, además de las conclusiones teóricas, indican que la elección por parte de la hembra se produce y que probablemente tiene una base genética seguramente ubicada en el tercer cromosoma. Sin embargo, a nuestro entender, las circunstancias en las que tal elección se ha mostrado no son útiles a la hora de determinar las bases genéticas de la elección de pareja. El que la hembra prefiera copular con un macho en vez de con otro al que quizá no considera de su especie o al que quizá no reconoce como macho no es útil para determinar la base genética de la elección. En el experimento debería optar entre dos machos, ambos aptos para copular, y que ella prefiera copular con uno de ellos.

Aún hay un escollo adicional que resolver, con el que han tropezado otros muchos autores. Nos referimos al problema, ya mencionado, de distinguir experimentalmente entre selección inter e intrasexual, o si se prefiere, distinguir la elección de pareja de la capacidad para inducir la cópula.

Una posible aproximación es buscar casos en los que hay emparejamientos selectivos (esto es, no aleatorios) en ausencia de competencia entre los machos (sugerido en Patridge, Ewing y Chandler 1987) y para demostrar que ese apareamiento diferencial se produce a causa de la elección hay que documentar diferencias comportamentales de las hembras ante machos de uno u otro tipo. Sin embargo, excepto en los poco frecuentes casos en que se dan claros comportamientos de rechazo, la hembra hace poco más que huir del macho y, finalmente, aceptarle o no. De modo que no es fácil buscar diferencias comportamentales en las hembras, puesto que huir es un comportamiento inespecífico al que no podemos aplicarle exclusivamente causas relacionadas con la elección de pareja.

Otro modo de determinar si hay elección es, una vez conocida la capacidad para inducir la cópula (medida, por ejemplo, como tiempo hasta la cópula) de machos y hembras es observar si en experimentos con competición se obtienen resultados acordes a dichas capacidades (Carracedo y col. 1998). Sin embargo el hecho de obtener resultados en que el macho más competente en solitario sea también el más eficaz compitiendo no descarta que no haya elección de la hembra en cualquier caso. Un modo de solventar esta situación es controlar en qué medida es proporcional el número de cópulas en competición de un tipo de macho en relación a su habilidad para inducir a la hembra a copular cuando no hay tal competencia.

Un segundo sistema es comparar hembras del siguiente modo. Para averiguar si una hembra está eligiendo cuando se encuentra con dos machos de diferente genotipo lo ideal es comparar sus apareamientos con uno u otro con los de una hembra que entenderemos como control cuando se

enfrenta a machos de los mismos genotipos. Si hay diferencias podremos afirmar que las hembras están eligiendo. Evidentemente habremos de controlar la propensión previa a aparearse con cada tipo de machos de cada una de las dos hembras.

1.4- Factores que afectan al éxito reproductivo de los machos

Independientemente de que las hembras elijan o no, o de los motivos evolutivos que lleven a un carácter a resultar más eficaz para lograr copular, lo que sí parece indudablemente cierto es que en la naturaleza es común que se produzcan apareamientos no aleatorios entre individuos de diferente sexo, es decir, apareamientos selectivos. Diversos caracteres son los que parecen ser los que aumentan las posibilidades de los machos de encontrar una hembra dispuesta a cruzarse. Un primer paso para analizar genéticamente la elección de pareja es conocer cuales son los rasgos masculinos sujetos a selección sexual.

Normalmente se enfoca la atención en rasgos sencillos y que presentan un notable dimorfismo sexual. Centrarse en esta clase de rasgos presenta, en principio, algunas ventajas. Teóricamente es mucho más probable que las hembras seleccionen en base a un carácter dimórfico que se haya desarrollado por selección sexual; eso garantiza que resulta interesante para las hembras. Si se hace un experimento de selección sexual además se evita, en principio, tener que hacer consideraciones sobre la presión que sobre el carácter ejerce otra selección que no sea la sexual. También evita enfrentarse al problema, relativamente común en rasgos no dimórficos, de que el óptimo del rasgo en hembras difiere del óptimo en machos (Chippindale y col. 2001). En *D. melanogaster*, por ejemplo, podríamos atender a la influencia de la pigmentación (que difiere entre los dos sexos) o de los peines sexuales.

Sin embargo es interesante reconsiderar alguna de las ventajas que se esgrimen habitualmente. En primer lugar no es sensato limitarnos a considerar caracteres dimórficos, pues es bastante común que la selección se restrinja solamente a rasgos exclusivos del macho. Además es posible que un carácter sea dimórfico por causas ajenas a la selección sexual, aunque vinculadas a los diferentes modos de vida que desarrollan machos y hembras. Por ultimo también es común que los rasgos bajo presión sexual no resulten interesantes en sí mismos, sino formando parte de un display más complejo que involucre señales muy variadas y de distinta índole y que sea la interacción de todas ellas lo que resulte finalmente interesante. Si no trabajamos con el conjunto de señales que configuran este display perdemos la ventaja que podría conllevar el rasgo.

Dentro del grupo de los insectos hay pruebas de la importancia del tamaño, la simetría bilateral, el perfil feromonal y la capacidad de ejecutar adecuadamente el ritual del cortejo. Además de esto, se sabe que sobre el éxito reproductivo del macho y de la hembra influye notablemente la carga genética de ambos participantes. En nuestro trabajo hemos estudiado el efecto de algunos de estos rasgos sobre el comportamiento de la hembra.

1.4.1- El cortejo

El cortejo en *Drosophila melanogaster* es un tema estudiado desde que se comenzó a utilizar este insecto como animal experimental, pues es un comportamiento vistoso y fácil de describir. El cortejo es importante a la hora de reproducirse en dos facetas que motivan gran interés: el reconocimiento interespecífico (Bennet-Clark y Ewing 1969) y el efecto que tiene sobre a la hembra (von Schilcher 1976a; Tomaru y Oguma 2000). La cantidad de información de la que disponemos sobre este comportamiento es muy extensa. La mayoría de estos estudios se centran en evaluar las capacidades del macho para cortejar y a qué condicionantes a nivel sensorial, genético o físico están sometidos estas capacidades.

Durante el cortejo, el macho presenta un comportamiento activo y ostensible. El macho ejecuta una secuencia exacta de comportamientos que han de seguir un orden bastante rígido y muy bien conocido (revisado en Hall 1994). Muy resumidamente, el macho se orienta hacia la hembra que pretende cortejar y hace vibrar un ala produciendo lo que se denomina la canción nupcial, que es muy específica para cada especie. En caso de que la hembra se mueva, que es lo habitual, el macho la persigue, repitiendo incansable los dos comportamientos mencionados (orientarse y cantar). El siguiente paso, cuando la hembra permanece lo suficientemente quieta, es lamer la genitalia de la hembra. Y a continuación, si ella lo permite, el macho monta sobre ella, curva el abdomen y la copula. Esta sucesión de pasos, aparentemente sencilla, involucra una serie de señales visuales, acústicas, gustativas y olfativas que han de ser percibidas, procesadas e interpretadas por los participantes, que actúan en consecuencia. Todos estos factores hacen de esta interacción un proceso extraordinariamente complejo.

Dentro del cortejo resulta fundamental la canción nupcial. Se conoce desde hace muchos años el peso que tiene en la estimulación de la hembra (Manning 1967; von Schilcher 1976 a y b; Kyriacou y col. 1982). El canto consiste en hacer vibrar en periodos sucesivos alternativa y unilateralmente cada ala con dos tipos de pulsos. Su principal efecto es enlentecer el paso de la hembra (von Schilcher 1976b) para permitir el acercamiento del macho. La señal es esencialmente acústica, puesto que este efecto se consigue también mediante una grabación (Kyriacou y col. 1984)

y las moscas con antenas disfuncionales no la detectan (Manning 1967; Markow 1987). También se le ha propuesto un papel difundiendo hidrocarburos cuticulares, facilitando la señalización química (Cobb y Ferveur 1996).

Sin embargo la canción nupcial no es imprescindible para lograr copular, puesto que machos que carecen de alas por causas genéticas o quirúrgicas completan el cortejo (Ewing 1964; Scott 1994; Tomaru y Oguma 2000). De hecho, según algunos autores (Ewing 1983), la talla es más determinante para el éxito reproductivo del macho que la canción.

El papel de la hembra durante el cortejo es más pasivo, queriendo decir con esto que desarrollan menos actividad observable. Si el macho es aceptado, la hembra aparta las alas permitiendo que el macho la monte y abre el plato vaginal para copular. Como se ha mencionado previamente, el comportamiento de aceptación/rechazo del macho por parte de la hembra ha sido estudiado y se conocen varios genotipos mutantes de hembras que sistemáticamente rechazan copular (revisado en Yamamoto y col. 1998b).

El medio por el cual las hembras manifiestan su rechazo es una serie de comportamientos, evidentemente activos, relativamente infrecuentes. Estos comportamientos se han descrito en hembras en dos situaciones vitales muy distintas. Los producen hembras vírgenes muy inmaduras (menos de dos días), o bien hembras que han sido fecundadas muy recientemente. La manera en que muestran el rechazo a aparearse es muy diferente en uno y otro caso (Yamamoto y col. 1997). La hembra ya copulada evita serlo otra vez principalmente extruyendo su ovopositor, lo que impide el contacto genital. Las hembras inmaduras tienden a huir, llegando a propinar patadas a los machos y a hacer vibrar las alas en una señal de rechazo si se sienten muy acosadas. El comportamiento más eficaz para tal evasión es la huida, mucho más eficaz si es volando. El resto de comportamientos podrían ser anomalías motivadas por el diseño experimental, según algunos autores (Ewing y Ewing 1984).

Toda esta serie de comportamientos visibles de la hembra denotan que durante el cortejo la hembra analiza las señales provenientes del exterior y les da una respuesta apropiada. Se conoce la privación de qué sentidos en la hembra conduce a que no se consume la copula (Markow 1987). En estos estudios con líneas mutantes se observó que en las hembras no percibir estímulos visuales apenas determina el éxito copulatorio, mientras que no percibir las señales olfativas y, con mayor importancia, las auditivas lo dificultan enormemente. Estos procesos también se observan con moscas de fenotipo wt. Por ejemplo (Kopp y col. 2000), los machos con una pigmentación corporal femenina no resultan menos atractivos (mientras que el fenómeno contrario, hembras con pigmentación masculina, sí). Sin embargo, en la línea de los resultados obtenidos con mutantes,

cuando a los machos se les impide simultáneamente emitir señales acústicas y olfativas, la cópula es prácticamente imposible (Rybak y col. 2002).

Y aunque la fisiología de los mecanismos que regulan la receptividad de la hembra no se conoce en profundidad, sí se conocen algunas de las estructuras cerebrales implicadas (Tompkins y Hall 1983), así como el papel de algunos neurotransmisores (Neckameyer 1998) y de la maquinaria celular (Sakai y Kidokoro 2002).

1.4.2- El tamaño del macho

El apareamiento no aleatorio, con tendencia a que el macho más grande tenga más éxito es muy común en los insectos. El género *Drosophila* no es una excepción en este aspecto. El éxito reproductivo de machos silvestres se ha estudiado desde hace años, tanto en condiciones de laboratorio (Ewing 1961) como en el campo (Partridge, Hoffmann y Jones 1987). Un factor muy determinante parece ser el tamaño (Partridge y Farquhar 1983; Partridge Hoffmann y Jones 1987; Partridge, Ewing y Chandler 1987; Wilkinson 1987; Markow 1988; Santos y col. 1988; Markow y Ricker 1992; Markow y Sawka 1992; Hegde y Krishna 1999).

En estos estudios, ya sean de campo o en condiciones de laboratorio, se comprueba que los machos de mayor tamaño consiguen copular más rápidamente (Ewing 1961; Partridge y Farquhar 1983; Hegde y Krishna 1997) y también con más frecuencia a lo largo de sus vidas (Partridge, Hoffmann y Jones 1987; Partridge, Ewing y Chandler 1987; Markow 1988a; Santos y col. 1988; Markow y Ricker 1992). El tamaño afecta asimismo a la fecundidad (Pitnick 1991; Lefranc y Bundgaard 2000), y a la capacidad de reducir el tiempo de espera de una hembra antes de una segunda copula (Pitnick 1991).

Son varias las causas que pueden hacer a los machos grandes más interesantes: cantan más alto (Ewing 1984), son más rápidos y más capaces de llevar a cabo un ejercicio sostenido largo tiempo y por tanto desarrollan mayor intensidad del cortejo (Partridge, Ewing y Chandler 1987; Santos y col. 1988). Los machos más grandes también son capaces de controlar mejor un territorio con nutrientes (Hoffmann 1987a y b; Markow 1988). Los comportamientos agresivos entre machos también tienen importancia en algunas especies de *Drosophila* (Dow y von Schilcher 1975; Hoffmann 1994) y se ha visto que los machos mayores suelen salir victoriosos, tanto en *D. melanogaster* (Partridge y Farquhar 1983) como en *D. pseudoscura* (Partridge, Hoffmann y Jones 1987). Sin embargo la competencia entre los machos confiriendo ventaja a los de mayor tamaño no

puede ser el motivo principal de ventaja, pues esta ventaja existe aún sin la presencia de un segundo macho (Partridge y Farquhar 1983).

Sin embargo cuantas más especies se van estudiando dentro de este taxón, mayor es el número de ejemplos que se encuentran en que no hay una relación tan clara entre el tamaño del macho y su éxito copulador. Desde luego en gran parte de estos estudios se produce esa vinculación talla-éxito (un resumen en Markow y col. 1996) pero también hay especies en las que no se da tal correlación (*D. willistoni* en da Silva y Valente 2001) o es incluso una correlación negativa, es decir, tiene ventaja el macho pequeño (*D. montana* en Aspi y Hoikkala 1995). En otros muchos casos lo que se encuentran son resultados contrapuestos en diferentes estudios, como por ejemplo en *D. nigrospiracula* (Markow 1988 frente a Polak y Markow 1995), *D. pseudoobscura* (Partridge, Ewing y Chandler 1987 frente a Markow y Ricker 1992 y Markow y col. 1996), *D. subobscura* (Steele 1986 frente a Steel y Partridge 1988), *D. simulans* (Markow y Ricker 1992 frente a Markow y col. 1996) o *D. buzzatii* (Santos y col. 1988 frente a Norry y col. 1995 o Santos 1996). Desde luego parte de esta heterogeneidad de resultados se debe a la heterogeneidad de condiciones en que tal correlación se comprueba, siendo la diferencia más palpable si es fruto de la recogida de individuos en campo (Markow 1988; Partridge, Ewing y Chandler 1987; Markow y Ricker 1992; Aspi y Hoikkala 1995; Markow y col. 1996) o del resultado de un experimento de laboratorio (casi todos los realizados con *D. melanogaster*; fuera de ésta: Steel y Partridge 1988; Markow 1988; Pitnick y Markow 1994; Norry y col. 1995; Santos 1996; da Silva y Valente 2001).

Incluso en *D. melanogaster*, que es una especie donde está muy asentado el hecho de que el macho grande tiene ventajas a la hora de copular, podemos encontrar resultados ambiguos en este sentido. Estas discrepancias aparecen tanto en algunos bloques concretos de experimentos dentro de un trabajo que, en conjunto, sostiene tal correlación (Partridge, Hoffmann y Jones 1987; Markow y Sawka 1992) como en experimentos en los que estudiando algo no relacionado con el tema que nos ocupa se obtienen colateralmente resultados que, más o menos directamente, implican que tal correlación podría no estar ocurriendo (Sharp 1984; Pitnick 1991; Zamudio y col. 1995; Promislow y col. 1998; Joshi y col. 1999). Es más, algunos resultados indican que, profundizando en los resultados obtenidos en condiciones naturales (Markow 1988) o bajo ciertos paradigmas experimentales (Wilkinson 1991), no tienen más éxito los machos grandes.

1.4.3- La edad de las moscas

La mayoría de los experimentos que venimos enumerando se han realizado con moscas de tres o cuatro días de edad, con alguna excepción (Partridge y Farqhar 1983; Sharp 1984; Scott 1994). Se sabe que a partir del segundo día tras emerger de la pupa, las hembras son maduras sexualmente (Ford y col. 1989; Markow 1996) y esa parece ser la edad mínima para que las moscas sean receptivas. Tampoco los machos son capaces de desplegar todos los comportamientos que implica el cortejo hasta las 48 horas (Ford y col. 1989). Hay, desde luego, estudios que evalúan la variación del comportamiento sexual de las moscas a lo largo de la vida. Los machos van siendo más fértiles con el paso del tiempo (Service 1993). Las edades que se barajan en estos experimentos exceden con mucho las empleadas en nuestros experimentos. Sin embargo en experimentos en que las hembras optan entre dos machos de diferente edad (2, 4 u 8 días), el macho de más edad suele copular en más ocasiones que su adversario más joven (Long y col. 1980), además de desarrollar cortejos más largos. Es por ello que controlaremos la edad de las moscas como posible fuente de discriminación/elección.

1.4.4- El genotipo de las moscas

El efecto genético es muy obvio pues se conocen cientos de modificaciones de genes individuales que varían muy notablemente el comportamiento de machos y hembras, hasta el punto de, en muchas ocasiones, inhibirlo completamente (muchas revisiones, como por ejemplo Yamamoto y Nakano 1998; Emmons y Lipton 2003; Fitzpatrick 2004). Aún en situaciones en que no hay un fenotipo identificable (moscas wt) se encuentran diferencias sustanciales respecto al comportamiento sexual (Casares y col. 1998), incluso en líneas muy semejantes genéticamente por provenir de una misma población (Casares y col. 1992 y 1993). El background genético tiene, en ocasiones, un marcado efecto sobre el comportamiento. Se conocen mutaciones, por ejemplo *mushroom body miniature (mbm)* que producen fenotipos diferentes en función del fondo genético (de Belle y Heisenberg 1996). Por otro lado homogenizar el fondo genético a bases de insistentes retrocruzamientos produce, por problemas de endogamia, significativos descensos en la capacidad de los machos para aparearse (Sharp 1984)

1.4.5- Las condiciones experimentales

En general en los estudios sobre comportamiento sexual, al menos dentro de *Drosophila*, hay una enorme heterogeneidad en las condiciones experimentales (una muestra de ello en O'Dell 2003). Esta heterogeneidad a veces puede ser justificada por estar interesado en un aspecto que requiere cierta peculiaridad en el diseño. Justificado o no, lo que sí causa es que sea prácticamente imposible comparar los resultados de diferentes laboratorios.

En *D. melanogaster* los experimentos que indagan cuestiones referentes al éxito reproductivo no han sido ajenos a esta situación y se han desarrollado en una gran variedad de condiciones experimentales (algunos ejemplos en la **tabla A**). Muchos de ellos se realizan en pequeñas cámaras de observación del cortejo, donde se introduce a los participantes (ya sea uno o varios, tanto machos como hembras). También se utilizan placas petri o similares o tubos de cultivo de moscas de diversos tamaños. En general se utilizan espacios restringidos para facilitar el contacto del macho con la hembra y, además, dificultar que la hembra pueda evadirse. Lógicamente estas condiciones no aseguran un comportamiento natural de los animales (Ewing y Ewing 1984).

Respecto a la duración del periodo de observación también encontramos mucha variedad. En este sentido no hemos de perder la perspectiva de que, según la duración del experimento, los resultados obtenidos pueden ser muy diferentes (Casares y col. 1992; Markow y Sawka 1992; Scott 1994). En principio en *D. melanogaster* un periodo de observación de 20-30 minutos debería ser más que suficiente para que moscas activas sexualmente se apareen (Casares y col. 1998), y todo lo que exceda este tiempo no hará sino propiciar la obtención de resultados espurios, pues en tiempos de observación largos se suelen conseguir el 100% de los apareamientos posibles.

Muchas veces en los experimentos realizados para medir la tendencia de la hembra a cruzarse con machos de cierta característica se usan machos que pertenecen a líneas que han sido sometidas a selección artificial en diferentes aspectos (Ewing 1961 y 1964; Casares y col. 1993; Piñeiro y col. 1993; Reeve y col. 2000). Esta selección puede llevar a seleccionar, adicionalmente, aspectos que no se están controlando pero pueden tener efectos sobre el comportamiento más allá de la característica que se pretende seleccionar. También se utilizan como competidores machos de líneas que presentan mutaciones conocidas en uno o varios loci, sin controlar sus efectos pleiotrópicos que pueden afectar a la capacidad de copular (Casares y Carracedo 1987; Wallace 1989; Dernoncourt-Sterpin y col. 1991). Además una línea mutante establecida suele presentar variaciones genéticas que alivian el fenotipo que han sido seleccionadas sin intención. Este problema se puede solucionar asegurándonos de que las líneas que empleamos comparten su fondo

genético y no difieren en nada más (o apenas en nada más) que en la mutación que usamos como marcador. Y una vez hecho esto es importante estudiar en profundidad los efectos del marcador genético sobre el comportamiento.

También encontramos diferencias entre experimentos a la hora de generar variedad de tallas entre las moscas. Hay varias formas de generar moscas de tamaños variados: emplear líneas de moscas seleccionadas por su talla, crecer las moscas a diferente temperatura o bien recoger moscas en sucesivas generaciones de un mismo tubo, pues el empobrecimiento de la comida hace que el tamaño medio de las moscas sea menor con el paso de los días. Puesto que tanto la temperatura a la que las moscas se desarrollan (Zamudio y col., 1995) como el hecho de que crezcan en alta densidad larval (Santos 1996) afectan en su comportamiento, independientemente de las diferencias de tamaño generadas, preferimos no forzar la variación en la talla por ninguno de estos métodos.

En *D. melanogaster*, como en casi todas las otras especies del género, la actividad reproductora varía a lo largo del día. La máxima frecuencia se observa desde 3 horas desde el amanecer (ZT3) y va descendiendo de forma paulatina hasta el punto mínimo de actividad sexual, en torno al momento de anochecer (ZT12) (Sakai e Ishida 2001a; Tauber y col. 2003). Estos cambios en la frecuencia de los apareamientos se deben principalmente a cambios de motivación de la hembra, pues los machos están activos sexualmente en cualquier momento del día o la noche (Sakai e Ishida 2001b). Y esta fluctuación no está asociada a los cambios de actividad diaria (Tauber y col. 2003) aunque sí le afectan las mutaciones en genes relacionados con el reloj biológico (Sakai e Ishida 2001a y b). Es muy interesante, además, que estas diferencias en la actividad sexual a lo largo del día se agudizan con la edad de la mosca, de modo que son mucho mayores en moscas de nueve días que en moscas de tres. En éstas las diferencias de actividad entre los picos de máxima y mínima actividad no son significativas. Tenemos, por tanto, que considerar la interacción de estas dos variables en comportamiento reproductor.

Muchos de los experimentos que hemos venido mencionando se realizaron por la mañana, en el teórico máximo de actividad sexual, y eso pese a utilizar mayoritariamente moscas de una edad en que estas diferencias apenas son perceptibles. En nuestro trabajo, sin embargo, hemos preferido realizar los experimentos por la tarde por dos razones. Primera, que las oscilaciones debidas a la edad son menores cuando los experimentos se realizan por la tarde (Sakai e Ishida 2001a). En segundo lugar, el hecho de que la receptividad de las hembras sea menor no tiene por que afectar a su capacidad de elegir, que es lo que nos interesa detectar.

MATERIAL Y METODOS

2.1- Cuidado y mantenimiento de las moscas

Las líneas utilizadas se generaron partiendo de moscas de la línea “silvestre” CantonS (Cs) de nuestro laboratorio y del stock cv2 cedido por el laboratorio de Antonio García-Bellido. Dicho stock sólo portaba la mutación *crossveinless 2* (cv2) en homocigosis siendo, en principio, del mismo fondo genético que la línea CantonS. cv2 es un gen del cromosoma dos que presenta alelos mutantes en los que desaparece la mayor de las venas transversales del ala (la más distal) que une las venas L4 y L5 (Díaz-Benjumea y col. 1989). La proteína que sintetiza es parte de la vía de señalización BMP-like y actúa potenciando la señal de *Gbb* y *Dpp* en las venas transversales (Conley y col., 2000).

Escogimos esta mutación por varias razones: es fácilmente observable en las moscas vivas bajo la lupa y en alas cortadas al microscopio, no está en el cromosoma X y no tiene efectos descritos en su comportamiento ni está descrita su expresión en el sistema nervioso, tejido muscular u órganos de los sentidos.

Para generar las líneas de trabajo cruzamos unas 30 vírgenes del stock cv2 con machos Cs. La descendencia obtenida en este primer cruce la cruzamos consigo misma e hicimos lo mismo con su descendencia. Los descendientes con fenotipo cv de esta tercera generación los cruzamos entre sí en cruces individuales. De entre la descendencia de esta cuarta generación tomamos machos y vírgenes wt para establecer unas 30 líneas provenientes de una sola hembra. Once de estas líneas mostraron que ambos padres eran heterocigóticos, pues la descendencia presentaba los dos posibles fenotipos aún proviniendo de dos padres con fenotipo cv.

Para formar la línea de moscas cv cruzamos durante cuatro generaciones parejas de hermanos cv de cada una de estas parejas de heterocigotos y, finalmente, escogimos una de las líneas resultantes como nuestra línea cv.

El stock wt lo generamos de modo similar. De los descendientes cada una de las 11 líneas heterocigóticas tomamos unas 40 parejas de machos y hembras de fenotipo wt y los cruzamos entre sí. De cada uno de estos 440 cruces iniciales de moscas con fenotipo wt fuimos conservando sólo aquellos en que no apareció ninguna mosca con fenotipo cv durante cuatro generaciones.

De las 11 líneas iniciales de hermanos heterocigotos sólo logramos, por diversos motivos, establecer una línea wt y una cv en cuatro de ellos. De entre estos seleccionamos una pareja de líneas wt y cv para establecer nuestros stocks de trabajo. La seleccionamos considerando el aspecto saludable de las moscas de ambos genotipos y la apreciación, *de visu*, de que los animales tenían un tamaño similar.

Los dos stocks se mantienen repartidos en unos 25-30 tubos grandes (30mm de diámetro) en un incubador a 25°C, con el 70% de humedad y bajo periodos de 12h de luz y 12 de oscuridad en el medio que normalmente usamos en el laboratorio para cultivar las moscas.

Para obtener las moscas con las que realizamos los experimentos seguimos el siguiente protocolo. En primer lugar introducimos 20 parejas de moscas jóvenes (hasta 4 días) en cada tubo grande durante 3 días y luego eliminamos los padres. Estos tubos los mantenemos en el incubador a 25°C, humedad superior al 70% y con ciclos de luz/oscuridad de 12h. De estos tubos, unos 20, recogemos machos y hembras vírgenes durante tres días después de que la primera pupa eclosione, y luego los descartamos. Los machos y las hembras eran recogidos 3 horas después del vaciado de los tubos, para garantizar que tanto los machos como las hembras no habían tenido la oportunidad de tener interacciones de índole sexual con individuos más maduros. Las moscas eran recogidas anestesiándolas levemente con CO₂. Estos machos y hembras vírgenes los conservábamos en el incubador bajo las condiciones ya mencionadas en tubos pequeños (15mm de diámetro) con el medio normal de cultivo. En cada tubo había 15 individuos (todos del mismo sexo, naturalmente) y permanecían allí de 3 a 8 días, hasta que llevábamos a cabo los diferentes experimentos.

Puesto que se conoce que las moscas crecidas a diferentes temperaturas, bajo diferente densidad larval o en diferentes cantidades de comida tiene un comportamiento sexual diferente, más allá del efecto que les produce su variación de tamaño, (Joshi y col. 1999; Santos 1996; Zamudio y col. 1995) renunciamos a generar grandes variaciones del tamaño creciéndolas en alguna de estas condiciones. Sin embargo tampoco quisimos suprimir las variaciones en el tamaño de las moscas para que las parejas de machos que tenían que competir tuvieran un tamaño que nosotros podamos distinguir con fiabilidad. La manera de mantener una variabilidad suficiente fue no ser estrictos en la densidad de larvas que incluíamos en cada tubo del que tomábamos vírgenes. Es decir, no contamos el número de huevos o larvas por tubo, sino que dejamos 20 parejas durante cuatro días, presuponiendo que no variaría demasiado la densidad de larvas en estos tubos.

2.2- Experimentos grabados en video

El recipiente en el que introducimos las moscas en estos experimentos, la denominada cámara de apareamiento (o de cortejo), es en nuestro caso una placa petri pequeña (34 mm de diámetro, 6mm de alto) con el fondo (el suelo) cubierto por 2 ml de agar al 3% en zumo de frutas del bosque. El agar nos permite asegurar una relativamente alta humedad ambiental durante el desarrollo del experimento, además de que la presencia de comida fomenta el inicio del de cortejo y reduce el tiempo transcurrido hasta la copula (Lichtenberger y col. 1989). Todos los experimentos

se realizaron a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ puesto que las hembras prefieren en un gradiente termal esa temperatura para depositar los huevos (Fogleman 1979). Manteníamos la humedad de la habitación por encima del 50%, tal como se recomienda en muchos protocolos (O'Dell 2003).

Las moscas eran introducidas por aspiración en la cámara a través de un orificio abierto en la tapa. Primero se introducían el o los machos y se los dejaba explorando la cámara durante al menos 5 minutos, en los que se comenzaba a grabar. Luego introducíamos por el mismo método a la hembra y grabábamos las interacciones que se producían en la cámara durante 900 segundos (15 minutos). Incluso aunque se produjera la copula no interrumpíamos la grabación porque algunas veces llegamos a observar montas fallidas. Los experimentos se realizaron a lo largo de todo el día entre ZT1 y ZT11. Para tomar las tallas de las moscas sólo empleamos experimentos realizados por las tardes, entre las horas ZT6 y ZT11.

Mediante este procedimiento experimental llevamos a cabo dos clases de experimentos. En los que denominamos experimentos sin competición introducíamos un solo macho. El objetivo es observar el efecto de distintas características del macho (su tamaño, la línea a la que pertenece, que tenga o no alas) en su éxito copulador, observando si llega a copular y el tiempo que invierte en ello. También controlábamos otros factores que pueden influir en el éxito de la copula, como la hora del día o las características de la hembra.

En los experimentos competitivos el objetivo es ver que caracteres del macho le facilitan ser el que copule. También se puede entender como analizar que variables influyen en el éxito reproductivo teniendo en cuenta la presencia de un segundo macho en la cámara.

2.3- Experimentos en que compiten en tubo machos de dos líneas diferenciabiles

El objetivo de estos experimentos es medir el efecto de la talla del macho sobre la frecuencia de copula en condiciones homogéneas disponiendo de una cantidad relativamente elevada de datos. En cada tubo de 22 mm de diámetro introducimos dos machos vírgenes de 5 días de edad, uno de la línea cv y otro con fenotipo normal de la línea wt. Ambos machos eran levemente anestesiados con CO_2 y esperábamos 20 minutos, hasta que estuvieran perfectamente despiertos, para introducir sin anestesia una virgen cv. Teniendo en cuenta el efecto oscurecedor que podía tener sobre nuestros datos un potencial desplazamiento del esperma de los machos y la proporción de segundas copulas previamente probamos estas características en nuestras dos líneas buscando las condiciones experimentales más idóneas para nuestros objetivos. Finalmente decidimos hacer los experimentos

bajo dos condiciones: las moscas permanecían en los tubos 24h a 25°C o 72h a 18°C, con ciclos de 12h luz/12 oscuridad y humedad ambiental elevada. Transcurrido este periodo eliminábamos los machos cortándoles antes el ala derecha para fijarla –según el procedimiento que detallaremos posteriormente-. Las hembras permanecían en el mismo tubo cinco días más, para ser posteriormente descartadas, no sin antes recoger su ala derecha. Los tubos en los que se pierde algún progenitor o aparece muerto se descartan, y el resto se conserva en las mismas condiciones unos 10 días más, hasta que un número importante de las pupas han eclosionado. En ese momento se observa la descendencia para inferir cual de los dos machos es el padre. Cuatro son los resultados posibles: el padre es el wt, el padre es el cv, ambos copularon y no se halló descendencia.

En nuestros experimentos previos encontramos que si manteníamos las moscas en los tubos un día a 25°C alrededor de la mitad de las moscas permanecían vírgenes. Hacer así los experimentos nos permite estudiar la importancia tiene el tamaño del macho a la hora de lograr que la hembra copule. En los experimentos en que las moscas permanecían en el tubo 4 días a 18°C nos encontramos que casi todas las hembras copulaban, siendo la proporción de segundas copulas relativamente baja. Aún siendo una proporción baja (en torno al 15% de los tubos) fue mucho mayor que el la primera condición, pues el tiempo medio hasta la segunda cópula es de dos días (Pitnick 1991). Estos experimentos nos servirán principalmente para indagar que hace que la hembra opte por uno u otro macho.

2.4- Experimentos en que se varía la posibilidad de escoger pareja

Tratamos de encontrar el efecto de que las hembras se encuentren con un número mayor o menor de machos sobre el tamaño de la descendencia. Realizamos dos modelos de experimentos. Una serie de apareamientos aleatorios, en la que cada pareja de hembra y macho se escoge al azar del mismo grupo que se utiliza para el resto de experimentos y se introducen en un tubo pequeño. En estos experimentos la hembra no tiene elección posible sobre con que macho copular. Puesto que el enfoque es discernir la presencia de apareamientos no aleatorios por parte de las hembras, en los experimentos en tubo grande introducimos un número de hembras dado e incrementamos la relación hembra:macho a 1:2, 1:3 e incluso 1:4. En estos experimentos podemos mantener el número de hembras utilizadas (10 hembras frente a 20, 30 o 40 machos) o el de machos (30 machos frente a 15 o 20 hembras).

Todos los experimentos se realizaron siguiendo el mismo protocolo: introducimos en los tubos el número de machos correspondientes (desde 1 a 40) y, transcurridos 10 minutos,

introducimos las hembras. Todo este proceso se realizó sin anestesiarse a los animales. Las moscas permanecían en estos tubos durante 48 horas. Trascurrido este tiempo las anestesiábamos y les cortamos tanto a machos como a hembras el ala derecha para medirla posteriormente. Las hembras vivas eran entonces introducidas en tubos pequeños, permaneciendo allí otras 48 horas. Esta descendencia nacida en tubos pequeños fue la que empleamos para analizar la talla. Para ello seleccionábamos cinco machos y cinco hembras (si los había) de entre los descendientes que emergían el segundo día de cada tubo pequeño y les cortábamos el ala derecha para su posterior medición.

2.5- La toma de datos

La longitud de las alas correlaciona positivamente con la del tórax y con el peso seco (Reeve y col. 2000). Puesto que nos es más sencillo trabajar con esta medida, utilizamos la longitud de las alas como una medida del tamaño corporal. Tomamos la longitud de las alas tal como lo hacen Partridge, Ewing y Chandler (1987), midiendo desde la intersección de la vena transversal proximal con la tercera vena longitudinal (L3) hasta el extremo distal de dicha vena. Para hacer esta medida cortamos el ala derecha de cada mosca y la sujetamos al portaobjetos utilizando cinta adhesiva de doble cara. Cuando habíamos cortado y pegado las alas de cada tanda cubrimos las muestras con un cubreobjetos.

Tomamos las fotos de las alas con un microscopio al que se le había acoplado una cámara digital. Todas las fotos se tomaron habiendo fijado previamente la pletina del mismo, para evitar variaciones en la magnificación de las fotografías. Además de esto, al principio y al final de cada sesión fotografiábamos un punto de dimensiones conocidas que nos sirvió para calcular la longitud en milímetros de las alas en vez de su dimensión referida en píxeles.

La longitud de las alas fue tomada utilizando un software empleado en morfometría geométrica, el conjunto de programas denominado TPS, de uso gratuito. Dicho software tiene la capacidad de proporcionar todas las longitudes entre puntos definidos dentro de una imagen. Se convirtieron las medidas de nuestro interés a milímetros tomando como referencia el punto de medida conocida fotografiado en cada sesión. La longitud de cada ala fue medida tres veces en sesiones independientes en un intento de reducir los posibles errores de medición. En la mayoría de los experimentos en que se opusieron dos machos aprovechamos que disponíamos de tres medidas para cada una de las alas para contrastar si, estadísticamente, podíamos afirmar que ambas alas tenían una medida diferente. Resultaron ser significativas las diferencias entre los participantes de

algo más del 60% de las parejas de machos wt y del orden del 76% en las parejas de un macho wt y otro cv. Esto nos sirvió para confirmar la eficacia de nuestro sistema de toma de medidas. Como medida de la talla de cada ala empleamos la media de las tres medidas redondeada a 4 decimales.

Hay muchas medidas posibles dentro del cortejo de *D. melanogaster* que reflejan, más o menos directamente, el éxito reproductivo (O'Dell 2003). Nosotros hemos escogido dos de ellas, principalmente por ser medidas absolutamente objetivas y que no exigen de ningún entrenamiento previo para ser tomadas con precisión.

El tiempo hasta la cópula es el periodo de tiempo que transcurre desde la introducción de la hembra en el recinto donde se encuentran el o los machos hasta que se produce la cópula. Lo emplean muchos autores pero con diferentes denominaciones, como *copulation latency* (CL; Rybak y col. 2002), *male mating speed* (MMS; Casares y col. 1993; Scott 1994) o *time to copulation* (Ewing y Ewing 1984). Puesto que el termino “velocidad de cópula” a veces se utiliza como el tiempo que pasa desde el comienzo del cortejo hasta la cópula (O'Dell 2003) nos pareció que lo mas indicado para referirnos a nuestra variable era el término *copulation latency* (CL) que nosotros traducimos como tiempo hasta la cópula.

La frecuencia de cópula se refiere, sencillamente, a la proporción de moscas de un grupo que han copulado en un periodo de tiempo. La terminología, en este caso, es mucho más universal y siempre se la refiere como *mating frequency* (MF; O'Dell 2003).

Respecto a la presentación de estos datos, los datos cuantitativos, como la longitud de las alas o el CL, se presentan siempre como su media \pm su desviación típica. Cuando en una gráfica presentamos una media siempre empleamos como barras de error el error típico de la media (*standard error of the mean*; SEM). En principio, las medias son significativamente distintas siempre que estos intervalos no solapen. Los datos de frecuencia se presentan referidos a 100 individuos, es decir, en porcentaje.

2.6- Tratamiento estadístico

Los contrastes estadísticos que se suelen emplear, como la prueba t, los análisis de la varianza o el cálculo del coeficiente de regresión de Pearson, exigen para su correcta aplicación varios requisitos previos que, en caso de no cumplirse, pueden dar lugar a resultados e interpretaciones erróneas. Estos procedimientos estadísticos se denominan paramétricos y, como decíamos, para su aplicación han de cumplirse requisitos como que las muestras procedan de

poblaciones en que las variables se distribuyen según una distribución normal o que las varianzas de las diferentes subpoblaciones no difieran significativamente.

En cada experimento testamos la normalidad de todas nuestras variables y sus transformaciones usuales mediante los test de Kosmogorov-Smirnoff y de Shapiro-Wilk. Así mismo mediante el test de Levene comprobamos la igualdad de varianzas (homocedasticidad) entre las distintas poblaciones que se forman para nuestras variables y sus transformaciones. Podemos afirmar que en la mayoría de los experimentos no fueron significativamente aceptadas ninguna de las hipótesis. Dos son las opciones que se abren a continuación. Podemos realizar test paramétricos amparándonos en lo robustas que suelen ser este tipo de pruebas Aunque, tal como sugieren estos mismos autores esta capacidad para resistir desviaciones de las condiciones tienen un límite (Zar 1999, epígrafes 8.1 y 10.1). La otra opción es emplear estadística no paramétrica, que suele ser menos potente.

La solución que preferimos adoptar fue el uso, siempre que así lo aconsejasen los datos y de que hubiera un test disponible, de pruebas no paramétricas. Estas pruebas normalmente trabajan con los rangos de las medidas y, aunque están sujetas a pocas restricciones para su uso tienen, en general, menos potencia probatoria. Aunque en muchas situaciones (Zar 1999, epígrafe 8.9), sobre todo cuando se trabaja con un número grande de casos, las diferencias de potencia son insignificantes.

De modo que, en la mayoría de los casos, para comparar la media de dos poblaciones independientes empleamos la prueba U de Mann-Whitney y, si eran más de dos poblaciones, la prueba de Kruskal-Wallis. Si la comparación había que realizarla teniendo en cuenta que los datos estaban apareados realizamos la T de Wilcoxon. Y como coeficiente de correlación empleamos el coeficiente rho de Spearman (σ_s) en vez del más común de Pearson. En cualquier caso siempre realizamos paralelamente el correspondiente test paramétrico, aunque sus resultados no siempre se han expuesto en este texto.

Por otro lado se dan situaciones en que, pese a que se violan las asunciones necesarias para realizar estadística paramétrica no teníamos a nuestra disposición test no paramétricos que cumpliesen dicha función. Cuando no había un test no paramétrico disponible utilizamos estadística paramétrica, aunque siempre teniendo en cuenta que estábamos rebasando esas asunciones.

Hablamos, por ejemplo, de los análisis en que queríamos considerar el efecto sobre nuestra variable de varios factores y alguna covariable simultáneamente. En estos casos empleamos el procedimiento denominado GLM (modelo lineal general) que nos permite realizar un ANOVA con múltiples factores y covariables y que no requiere, además, un número igual de replicas en cada casilla. Recibe ese nombre por emplear con este fin un tipo de regresión lineal múltiple. Este procedimiento está sujeto a las normas ya mencionadas y a alguna más, como la independencia de

las covariables. Pese a que las variables incumplen algunas de estas premisas empleamos este método en los análisis referidos al CL de la primera parte de los resultados, del mismo modo que lo hacen otros autores (Friberg y Arnqvist 2003).

Otra situación en que empleamos injustificadamente un test paramétrico es cuando queremos realizar un análisis de la correlación de dos variables pero controlando una tercera. A este coeficiente de correlación se le denomina coeficiente de correlación parcial (r).

Mención aparte merece considerar la regresión logística. La regresión logística evalúa en que medida están relacionados los valores que adopta una serie de variables independientes con el valor que toma una variable dependiente dicotómica (es decir, que sólo adopta dos valores). Estos valores se refieren a la ocurrencia, o no, de un suceso de nuestro interés.

Para evaluar en que medida son determinantes las variables independientes estima la probabilidad de ocurrencia de un determinado suceso en función de los valores que adopten las variables independientes. La ventaja es, además, que parte de unos supuestos menos restrictivos y que permite el empleo de variables independientes categóricas, aunque han de ser dicotómicas. Si estas variables independientes categóricas presentan más de dos valores el sistema las incluye como $n-1$ variables dicotómicas (siendo n el número de valores categóricos que podía tomar la variable), que son las denominadas variables dummy.

Una regresión logística no es, en muchos sentidos, diferente a una regresión lineal simple. El efecto de cada una de las variables se considera aditivo, de tal manera que cada probabilidad que se estima depende de la suma de los valores que adopta cada una de estas variables multiplicado por un coeficiente. A esta suma hay que añadirle el valor de la constante. Y, mediante una transformación matemática este valor se convierte en una probabilidad, es decir, un valor restringido entre el cero y el uno que estima la probabilidad de que acontezca el acontecimiento al que se refiere la variable dependiente.

Una diferencia importante entre esta regresión y la lineal simple es que en este caso no se emplea el método de los mínimos cuadrados par ajustar la ecuación (es decir, calcular los coeficientes de cada variable) a los valores. En la regresión logística se emplea el método de máxima verosimilitud (likelihood), de modo que los coeficientes que se calculan para la ecuación son los que se ajustan a los datos de la manera “más verosímil”. Puesto que el modelo no es lineal se necesita un algoritmo iterativo para estimar estos coeficientes.

¿Cómo se estima la bondad del ajuste del modelo a los datos? Un modo intuitivo y muy comprensible es, asumiendo que el evento se produce cuando la probabilidad que estima el modelo

supera el 0,5, ver en que porcentaje nuestro modelo “acierta”, atendiendo a los datos que hemos utilizado para formular la regresión, y pronostica lo que ocurrió.

Otro modo de estimar la bondad del modelo consiste en ver cuan “verosímiles” son los resultados obtenidos. Para ello se atiende al -2LogLikelihood (en castellano -2LogVerosimilitud, pero preferimos utilizar la terminología anglosajona). -2LogLikelihood (-2LL) es un valor que tiende a cero cuando la verosimilitud es máxima. Cuanto mayor es este valor peor ajusta la ecuación a nuestros datos. Sin embargo esto es una medida muy poco intuitiva.

Basándonos en -2LL, en concreto teniendo en cuenta la diferencia en este valor entre dos modelos que queramos comparar (uno de ellas ha de ser una versión más simple del otro) podemos testar la hipótesis de que el modelo más complejo es más explicativo, o no, que el más simple. Podemos hacer esto dado que la diferencia entre los -2LL tiene una distribución χ^2 con grados de libertad igual al número de variables adicionales que considera el modelo complejo respecto al simple. En el fondo este test nos está diciendo si las variables incorporadas al segundo modelo tienen un efecto significativo, es decir, si sus coeficientes son distintos de cero.

Una comparación que hacemos siempre en las regresiones logísticas que hemos ido probando es con el modelo nulo. El modelo nulo, en que todos los coeficientes son cero, lo que estima es la probabilidad de ubicar correctamente todos nuestros casos cuando el ubicarlos en las categorías “ocurrió” o “no ocurrió” de nuestra variable es completamente aleatorio. Utilizando el test de los -2LL podemos comparar no sólo con el modelo nulo, sino con cualquier modelo que contenga un número menor de variables.

Hay una tercera posibilidad de realizar un contraste de hipótesis con los parámetros que se obtienen en la ecuación logística. Es el cálculo del estadístico de Wald, que nos indica si el coeficiente de una variable es distinto de cero, es decir, si en un modelo dado esa variable resulta significativa. Se calcula al dividir el coeficiente entre su error estándar.

Para interpretar el efecto de una variable sobre la probabilidad de que se produzca el evento simplemente hemos de atender al signo de su coeficiente. Cuando su valor es positivo aumenta la probabilidad de que se produzca el evento, y al contrario si es negativo. Cuando las variables no son cuantitativas, es decir, se han introducido como factores el coeficiente hay que interpretarlo como el cambio en la probabilidad de pasar de un estado a otro de la variable. El estado basal el SPSS lo considera como el valor mayor que puede tomar esa variable discreta. Por ejemplo si introducimos la variable “genotipo del macho” siendo 0 el wt y 1 el cv el coeficiente que muestra el modelo es el que hay que considerar en el modelo cuando esta variable pasa del estado basal 1, cv, a 0, wt. Cuando la variable podía presentar más de dos categorías se ha reducido a una serie de variables dummies. En cada variable dummie la categoría de referencia sigue siendo el mayor valor que

puede tomar esa variable. Por ejemplo la variable “hora” supongamos que puede tomar seis valores, de 6 a 11. El programa codifica cinco variables dummies en las que la categoría de referencia es siempre 11.

Para generar un modelo en que se incluyan varias variables se pueden seguir diferentes metodologías. Nosotros hemos optado por seguir las recomendaciones de Kleinbaum y Klein. Comenzamos buscando los efectos de cada una de las posibles variables explicatorias en solitario. Cuando se encuentra que alguno de estos efectos es significativo empezamos a generar ecuaciones que incluyan cada vez más variables, además de las que eran significativas, y vamos viendo si el modelo mejora su significación. El siguiente paso es probar si la interacción entre las variables que son significativas tiene, a su vez, alguna significación. Hay que tener en cuenta que un modelo siempre ha de estar jerárquicamente bien construido, lo que quiere decir que no puede incluir ninguna interacción si no se están considerando, a la vez, todas las variables que lo componen.

El SPSS nos permite incluir todas las variables e interacciones posibles y el va filtrando las que resultan significativas. Este proceso se puede hacer en dos sentidos. Puede comenzarse a partir del modelo nulo e ir incorporando, una por una, las variables que hacen que el modelo se ajuste mejor a la realidad. La otra opción es incluir todas las variables asignadas e ir eliminando todas aquellas que al ser eliminadas no hacen variar significativamente lo bien que ajusta el modelo. Este modo de proceder presenta dos problemas. El primero es que no está obligado a que los modelos que va probando estén jerárquicamente bien contruidos. El segundo problema es que, al contrario de lo que proponen casi todos los autores, no considera que todas las variables son igual de importantes. Cuando la mayoría de los autores recomiendan que se tienda a emplear aquellas variables a las que se conoce un sentido en el problema a estudio y, además, cuyos efectos se pueden interpretar con sentido. En cualquier caso este proceso es muy útil para que el programa valore de todas las posibles variables (e interacciones) cuales serán más eficaces.

EFFECTO DE LA TALLA SOBRE EL ÉXITO REPRODUCTIVO

En esta parte de nuestro trabajo hemos tratado de evaluar el efecto de la talla de las moscas sobre su éxito a la hora de reproducirse. Para ello realizamos cuatro tipos de experimentos, semejantes a otros descritos en la bibliografía y que fueron empleados con el mismo fin. Nuestro objetivo es certificar si la talla tiene efecto sobre el éxito reproductivo y, de ser así, en qué medida y bajo qué circunstancias.

La diferencia con los trabajos previamente realizados es que realizamos los diferentes tipos de experimentos usando moscas de una misma línea que además fueron generadas en idénticas condiciones. Por eso podemos comprobar que el tamaño medio de los machos ($\chi^2=3,750$; $gl=3$; $p=0,290$) y las hembras wt ($\chi^2=3,918$; $gl=2$; $p=0,141$) utilizados en estos cuatro experimentos no difieren significativamente de un experimento a otro. La homogeneidad de las tallas de las moscas de genotipo cv, dado éstas solo se utilizan en un experimento, se tratan en el apartado correspondiente (epígrafe 3.4.1).

Es interesante considerar esta homogeneidad de tamaño a la luz del problema que, a priori, podía plantear el método de cultivo. El método que empleamos para crecer las moscas, tal como se ha comentado anteriormente, nos asegura moscas de un tamaño parecido pero no idéntico. Pese a este riesgo, el tamaño medio de las moscas entre los cuatro tipos de experimentos finalmente resultó no ser diferente. Sin embargo dentro de las repeticiones de cada experimento sí tuvimos problemas en este sentido, como se verá más adelante.

La mayoría de los experimentos se desarrollaron durante un periodo de aproximadamente 5 meses, excepto una tanda adicional que se llevó a cabo un año después. Durante este tiempo se intercalaron experimentos de los distintos tipos, con el fin de que en el resultado final la talla de las moscas empleadas en cada experimento no difiriera significativamente por efecto del cultivo. Los experimentos se distribuyeron según el calendario de semanas (**calendario A**).

Para cada experimento realizamos un análisis lo más exhaustivo posible del efecto que tuvo el tamaño de las moscas sobre su éxito reproductivo. Evidentemente estos análisis se adaptaron a las circunstancias de cada uno de ellos, puesto que el tipo de resultados obtenidos difiere de unos a otros. En todos los experimentos, sin embargo, realizamos un análisis inicial de las variables empleadas en él, esencialmente por dos razones. La primera es analizar si las variables empleadas cumplen los requisitos para utilizar estadística paramétrica. Para ello comprobamos en cada caso si dichas variables se distribuían como una normal y si, además, la varianza era homogénea entre grupos. En segundo lugar comprobamos si las distintas variables que se consideran en el experimento, ya sean variables referidas a los animales empleados (variables independientes) o sean

resultados del experimento (variables dependientes), son iguales entre las diferentes repeticiones que hicimos del experimento. Estas repeticiones son necesarias para obtener un número razonable de casos para el análisis, pero, puesto que son realizadas en diferentes días, cabe la posibilidad de que variables que están fuera del control del experimentador hayan afectado sustancialmente al planteamiento inicial o a los resultados. Es por ello que, de cara a considerar todos los datos dentro del mismo análisis, comprobamos la homogeneidad de estas repeticiones, que llamaremos tandas. Este nombre lo prefiero a replica, que suele referirse a cada repetición individual de un experimento (cada tubo o cada placa petri, en nuestro caso).

Muchos autores (da Silva y Valente 2001) no consideran importante evaluar esta homogeneidad de las distintas variables entre las tandas y, simplemente, lo solventan incluyendo adicionalmente al resultado del análisis del experimento (de todas las tandas en conjunto) los resultados del mismo análisis para cada tanda. En nuestro trabajo, además de analizar la homogeneidad o no de las tandas, también las hemos analizado por separado.

3.1- Experimentos no competitivos en la cámara de cortejo

Grabamos un total de 180 parejas distribuidas en 6 tandas. De estas, solamente en 156 casos conseguimos medir el ala tanto al macho como a la hembra. Estas 156 parejas son las que hemos empleado para realizar los análisis. Tres son las variables que hay que tener en cuenta en este experimento: MF (es una frecuencia), CL (es tiempo y, por tanto, una variable continua) y la talla, absoluta (en mm) o relativa (referida, generalmente, al tamaño de la hembra).

3.1.1- Análisis de las variables

En primer lugar comprobamos si, con los datos disponibles, era posible realizar test paramétricos. Tal como es relativamente frecuente (Micceri 1989), las tallas de las alas no se distribuyeron como una normal (**tabla 1.0**), ni siquiera realizando transformaciones de los datos. Con respecto a las variables, se comprobó que éstas tampoco cumplían el requisito de homocedasticidad entre los bloques a analizar (por ejemplo, “copuló” frente a “no copuló”) ni entre las distintas tandas. Por ello recurrimos a la aplicación de test no paramétricos para el análisis de los resultados.

En segundo lugar verificamos la homogeneidad de las variables a tratar (MF, CL y tamaño) entre las seis tandas. Los valores para cada una de estas variables consideradas por tanda se incluyen en la **tabla 1.1**.

La proporción de machos que copula (MF) en cada tanda varió entre el 75 y el 92,3%, no siendo estos porcentajes significativamente diferentes ($\chi^2=5,315$; gl=5; $p=0,379$).

El tiempo que se tarda en copular (CL) varió entre 25 y 818 segundos. En la quinta tanda se requirió más tiempo en conseguir copular que en las demás (481,2s frente a los 280,5s de media). Esta diferencia hace que la diferencia de tiempo entre las tandas resulte significativa (**tabla 1.2**). Excluyendo la quinta tanda, éstas no difieren en cuanto al CL ($\chi^2=4,938$; gl=4; $p=0,294$). Sin embargo, puesto que nada hace pensar que la diferencia se deba a alguna causa ajena a las variables experimentales decidimos no dejar de incluir estas moscas en el análisis.

El tamaño medio de las moscas utilizadas fue de $1,337\pm0,093$ mm para los machos y de $1,489\pm0,095$ mm para las hembras. El tamaño de las alas no es homogéneo entre las distintas tandas, así como tampoco lo son sus posibles transformaciones matemáticas (**tabla 1.2**). Estas diferencias se deben, muy posiblemente, a que el método de cultivo no es estricto con la densidad de las larvas. La diferencia de talla entre tandas tiene una consecuencia adicional al considerar el conjunto de los datos, pues encontramos correlación ($\sigma_s = 0,176$; $p=0,027$) entre la talla de machos y hembras. Dicha correlación podría significar que los animales no estén emparejados aleatoriamente, sino que tienden a estar emparejados machos grandes con hembras grandes y viceversa. Sin embargo la correlación desaparece si controlamos la variable “tanda” al hacer correlaciones parciales ($r = 0,097$; gl=153; $p=0,232$), lo que nos indica es que tal correlación se debe a las diferencias medias de talla entre las tandas y no a que las moscas no fueran emparejadas al azar. Analizando tanda por tanda comprobamos que no se da tal correlación dentro de cada una de ellas (**tabla 1.3**).

3.1.2- ¿Es distinta la talla de los animales que copulan?

Para cada tanda y para el conjunto de todas ellas realizamos pruebas de Mann-Whitney para aclarar si la longitud del ala era diferente entre los animales que llegaron a copular y los que no (**tabla 1.4**). Para ello se analizaron por separado machos y hembras. El nivel de significación en todos los test fue superior a 0,05, tanto cuando se compararon la talla de los machos, como la talla de las hembras o la talla relativa del macho (el cociente entre ambos). Podemos por tanto afirmar que, una vez transcurrido el periodo de observación, no existieron diferencias significativas de tamaño entre los animales que copularon y los que no.

Considerando la duración total de los experimentos (900 segundos) no encontramos diferencias significativas. Puesto que en muchos trabajos se atestigua que el MF varía mucho en función del tiempo (Casares y col 1992; Casares y col. 1998), analizamos la diferencia de tamaño entre animales que habían copulado y no en varios tiempos intermedios. Como puntos de análisis de dichas diferencias escogimos tiempos con significado interno en el experimento, en concreto algunos percentiles (terciles, cuartiles y quintiles) de la frecuencia de copula (esto es, el momento en que ha copulando un porcentaje dado del total de los experimentos). Siguiendo este criterio utilizamos un total de 10 puntos sucesivos de análisis. En cada uno de ellos el numero de experimentos pertenecientes a las categorías “copuló” o “no copuló” varió de forma que, con el paso del tiempo, aumentó el número de individuos en la categoría “copuló”. Los resultados se observan en la primera gráfica de la **figura 1.1**. En general los machos que ya han copulado tienden a ser de mayor tamaño que los que aún no lo han conseguido, mientras que en las hembras el fenómeno es el inverso y las que ya han copulado tienden a ser de menor tamaño. Esta diferencia no es significativa en todos los puntos de análisis.

Podemos hacer hincapié en esta relación inversamente proporcional (los machos que copulan al principio tienden a ser los grandes y las hembras las pequeñas) si consideramos el tamaño relativo del macho con respecto a la hembra, esto es, el cociente resultante de dividir la talla del macho por la de la hembra. En la mayoría de los puntos (**figura 1.1**) este cociente es significativamente mayor (mas próximo a 1) en los experimentos en que se ha producido la copula. De esto se deduce que, cuanto más semejantes en tamaño eran macho y hembra, antes se produjo la copula.

Realizamos este mismo análisis dentro de cada tanda, utilizando como puntos de análisis los percentiles propios de cada una de ellas. Puesto que algunas de las tandas contienen un número relativamente bajo de experimentos, los análisis se llevaron a cabo en los casos en los que había al menos 8 datos en cada percentil. En ninguno de los casos probados resultó ser significativamente distinta la talla de los que copularon de los que no (**tabla 1.5**).

Hasta aquí hemos visto que, en cierto sentido, el tamaño relativo del macho puede influir en su probabilidad de copular. Solo hemos evaluado el efecto potencial de las tallas de las moscas, que es, en principio, la variable que más efecto tiene sobre el éxito reproductivo. Sin embargo tenemos datos de otras variables, como la tanda o la hora en que se realizó el experimento, que también podrían afectar a la probabilidad de copular. Intentando considerar en un solo análisis las tres variables (tallas, tanda y hora del día), realizamos una serie de regresiones logísticas con el fin de estimar el efecto de las mismas sobre la probabilidad de copular cuando las consideramos simultáneamente. Cada una de estas regresiones puede entenderse como un modelo que pronostica

la probabilidad de que se dé la cópula en función de los valores que adopten las variables independientes.

En una primera tanda de regresiones encontramos que ninguna de las variables analizadas (tamaño del ala del macho y la hembra, sus cuadrados, la tanda y la hora del día) tiene, por sí misma, un efecto significativo sobre la probabilidad de copular (**tabla 1.6**). Es por ello que no se evaluaron muchas de las posibles interacciones.

El programa nos permite que incluyamos todas las variables que deseemos y él, en función de criterios estadísticos, va descartando las que no son significativas. El sistema de filtrado puede seguir dos procesos. O bien se incluyen todas las variables y se van descartando todas las que no son significativas o bien el filtrado es la inclusión sucesiva de una variable tras otra, siempre y cuando su inclusión mejore la capacidad de pronóstico del modelo.

Incluyendo todas las variables simultáneamente y pidiendo que el programa filtre las que son significativas por el sistema de ir incorporando variables, no se generó ningún modelo. Es decir, la incorporación de ninguna de las variables mejora el modelo nulo. Si el procedimiento de filtrado que aplicamos es el descarte en sucesivos pasos de las variables que van perdiendo significación, el modelo resultante presenta un cambio ligeramente significativo en el -2 log-likelihood con respecto al modelo nulo ($\chi^2=7,87$; gl=3; p=0,049). Este modelo incluye tanto la talla del macho como la de la hembra y la interacción entre ambas variables, aunque ninguna de las variables incluidas afecta significativamente a la probabilidad de copular (**tabla 1.6**). Los signos de los coeficientes nos indican que, mientras que los incrementos en la talla tanto del macho como de la hembra disminuyen las probabilidades de copular, el producto de ambos –es decir, la acción conjunta- lo aumenta, estimándose probabilidades de copula tal y como se muestran en la tabla adjunta (**tabla 1.7**). El modelo tiene un -2 log likelihood relativamente alto, esto es, tampoco es muy capaz de ubicar correctamente los casos que conocemos en función de si copulan o no. De hecho el modelo acertó el resultado del 85,9% de los casos, mientras que el modelo nulo ubicó correctamente al 85,3%.

Analizamos también con una serie de regresiones logísticas el efecto de las variables que venimos considerando en el momento en que se había copulado en el 50% de los experimentos, esto es, que escogiendo un experimento al azar, la probabilidad de que en éste haya habido copula sea de 0,5. Sería como simular que los experimentos se paran transcurridos n segundos. Los diferentes modelos que probamos se encuentran resumidos en la **tabla 1.8**.

Bajo esta premisa, dos de los modelos que consideran una única variable resultaron ser significativos, el que incluía la hora y el que incluía la tanda. El modelo que incluye la hora resultó significativo (p=0,037), no así la variable hora (p=0,064). En este modelo se observa que de las

variables dummy generadas, puesto que la hora se introdujo como un factor y no como una variable cuantitativa, es la que corresponde a la primera hora (ZT6) la que se comporta significativamente distinta del resto. Esto quiere decir que en los experimentos que se realizan a primera hora la probabilidad de que se produzca la cópula es menor. También el modelo en el que se incluye la tanda resulta significativo ($p < 0,001$ respecto al modelo y $p = 0,014$ respecto a la variable en el modelo), marcando esta diferencia la quinta tanda, en la que disminuye la probabilidad de copular.

Respecto a los modelos en que se incluyen varias variables, con posibles interacciones entre las mismas, consideramos en primer lugar el modelo que dimos por bueno cuando analizamos los experimentos a su término, el cual consideraba la talla del macho y de la hembra y la interacción entre ambas. En las nuevas circunstancias, en que interrumpimos el experimento cuando se había copulado en la mitad de los casos, el modelo es también casi significativo. El modelo que incluye solo variables de interés biológico, es decir, incorporando al modelo mencionado la hora, resultó ser significativo.

Podemos pedir al programa que, considerando inicialmente todas las posibles variables, genere el modelo lo más significativo posible aplicando criterios exclusivamente estadísticos. Como ya se ha comentado, el programa ofrece dos modos distintos de estimar las variables que mejoran el modelo. Por un lado puede incluir inicialmente todas las variables e ir descartando las variables menos significativas, dejando de hacerlo si al descartar una variable el modelo pierde significativamente capacidad predictiva. El otro modo consiste en ir incorporando una variable tras otra siempre que la inclusión de la variable mejore significativamente el modelo.

Cuando pedimos un modelo que considere todas las variables y el cuadrado de las tallas y que incorpore sucesivamente variables significativas resulta un modelo que es significativo respecto al nulo ($p < 0,001$) e incluye solamente la variable tanda ($p = 0,014$), siendo claramente diferente del resto la quinta. Si lo que pedimos es que se genere un modelo que descarte sucesivamente las variables poco significativas se seleccionan modelos jerárquicamente mal contruidos (pues permanecen los cuadrados habiendo desaparecidos la variables de primer orden). Un modelo que incluye las mismas variables y respeta las reglas de jerarquía es significativo ($p = 0,003$), e incluye las variables “talla macho”, “talla hembra” “talla macho²”, “talla macho x talla hembra” y “tanda”. De todas ellas solo resultó ser significativa la variable tanda ($p = 0,025$). Si en primera instancia no incluimos los cuadrados de las tallas se selecciona finalmente (estimando que todas aquellas variables que, al ser descartadas, no afectan significativamente a la bondad del modelo) un modelo significativo respecto al nulo ($p = 0,001$) que incluye hora y tanda, resultando la segunda significativa ($p = 0,014$), pero no así la hora ($p = 0,118$).

En general, aunque los modelos generados aplicando criterios estadísticos nos aportan un enfoque importante a la hora de interpretar los resultados (en concreto que la quinta tanda es

claramente diferente al resto), es preferible considerar un modelo que presenta a) las menos variables posibles, dentro de un orden y b) aquellas variables que tienen un sentido biológico o fácilmente reconocible. Es por ello que el modelo que hemos preferido es aquel que incluía las tallas de macho y hembra y la interacción entre ambas, además de la hora. Cada hora afecta de un modo determinado a la probabilidad de copular, por haber introducido la hora como un factor (variable en categorías) y no como covariable (variable continua). Aunque la única hora que tiene un efecto significativamente diferente al resto es la primera, si podemos afirmar que, en general, cuanto más temprano se realizó el experimento menos probabilidad había de que se diera la copula. La tabla de probabilidades la hemos construido con este modelo y la hora que hemos utilizado para calcular las probabilidades es la ZT7 (**tabla 1.9**). El modelo tiene un -2 log likelihood relativamente alto, es decir, tampoco es muy predictivo. Así, estimó correctamente si copulaban o no el 60,9% de los casos, mientras que el modelo nulo acertó el 50% de las veces.

3.1.3- ¿Cómo afecta la talla de los animales al CL?

Ya hemos visto que, bajo ciertas circunstancias, el tamaño de las moscas y, más concretamente, la relación del tamaño del macho con respecto a la hembra, afecta a la posibilidad de que se dé la cópula. Ahora buscaremos posibles relaciones entre el tamaño de las moscas y el tiempo que tardan en llegar a copular. Para ello realizaremos una serie de test tratando de relacionar las variables tamaño y CL. En una primera aproximación gráfica (**figura 1.2**) observamos que no hay mucha relación entre ninguna de estas variables.

En primer lugar tomamos los 133 experimentos en los que se produjo la copula para analizar si existía alguna correlación entre el CL y el tamaño de las moscas. Realizamos análisis tanto para el conjunto de los experimentos como para cada tanda por separado (**tabla 1.3**). No hallamos correlación significativa entre la talla del macho ni de la hembra con el CL en ninguna de las tandas, ni tampoco en el conjunto de datos. Sí encontramos correlación, pero muy poco significativa ($p=0,046$), entre el tiempo y el cociente de las tallas al considerar todos los experimentos en conjunto. Si efectuamos la medida de la correlación controlando para las diferentes tandas (correlaciones parciales) esta correlación no es significativa ($r=-0,158$; $gl=130$; $p=0,070$). Sin embargo este test es paramétrico y por tanto no es completamente legítimo aplicarlo. Tampoco se dio una correlación significativa al analizar cada tanda por separado (**tabla 1.3**).

Aunque en general no haya una correlación entre la talla y el CL, cabe la posibilidad de que dicha correlación se dé solamente durante un periodo dentro de cada experimento. Es decir, que sólo se vincule la velocidad de copula y el tamaño en experimentos en que se llega a copular rápida o lentamente. Para descartar esta posibilidad analizamos si existía correlación talla-tiempo en

conjuntos limitados de experimentos que incluyeran a los más lentos o rápidos. No hallamos correlación entre ninguna de las variables de talla y el CL ni cuando solo incluía los experimentos que finalizaron en el tercio o los dos tercios finales (los “lentos”) ni tampoco entre los que copulan en el primer o dos primeros tercios (los “rápidos”). Ni tampoco si realizábamos este mismo análisis dentro de cada tanda (no mostramos estos resultados).

Llegados a este punto, nos interesaría tratar de evaluar simultáneamente el efecto de todas las variables consideradas con anterioridad sobre el CL mediante un análisis ANOVA que incluye varios factores y covariables. El SPSS genera estos modelos por medio de la función GLM (*General Lineal Model*). Nos enfrentamos de nuevo al problema de que no se distribuyen como una normal ninguna de las variables continuas (talla del macho y de la hembra y CL). Puesto que muchos autores justifican la posibilidad de violar algunas de las condiciones que imponen los test paramétricos hicimos dos aproximaciones. Por un lado realizamos los análisis utilizando las variables continuas tal cual y en una segunda aproximación agrupamos las tallas en bloques. Haciendo esto último pasamos a considerar las variables de talla como cuantitativas, evitando así los problemas con su falta de normalidad.

Utilizando las variables continuas como tal (**tabla 1.10**) realizamos una serie de análisis utilizando las variables talla del macho y de la hembra, interacción entre estas, hora del día y tanda de experimentos y, ocasionalmente, el cociente de las tallas. En general los modelos resultantes explican muy pobremente los tiempos obtenidos a partir de las variables empleadas (los $R^2_{\text{corregidos}}$ nunca superan el 0,2). En los modelos que incluyen todas las variables (con o sin interacción entre las tallas) no resultó significativa ni la talla del macho ni la de la hembra ni la hora del día. Resulta significativamente distinta la tanda quinta del resto –como ya sabíamos por nuestros primeros resultados-. Lo mismo ocurre si empleamos la talla relativa (el cociente) en lugar de las tallas del macho y la hembra. Si realizamos los análisis descartando la quinta tanda, los modelos continúan siendo realmente pobres y, además, ninguna de las variables resulta significativa.

Tal como hacen algunos autores (por ejemplo Friberg y Arnqvist 2003) agrupamos las tallas, tanto del macho como de la hembra, en 3 bloques (digamos, moscas grandes, medianas y pequeñas) para evitar los problemas de normalidad. En general estos modelos son menos explicativos que sus equivalentes realizados empleando las variables como continuas y, de nuevo, en ellos solo resulta significativa la variable tanda (**tabla 1.10**), siendo de nuevo significativamente diferente la quinta del resto. Si no consideramos esta tanda los resultados son, de nuevo, prácticamente idénticos a los obtenidos en los modelos en que las variables de talla fueron incluidas como covariables.

Otra posible aproximación a las relaciones que pudieran existir entre el tamaño de las moscas y el CL nos la brinda el análisis de supervivencia. Para ello tomamos el hecho de copular como evento terminal y los casos en que no se había copulado al finalizar el periodo de observación como casos censurados. Tratamos de hallar diferencias en la probabilidad de que el evento (copular) tenga lugar a lo largo del tiempo comparando los resultados de los animales grandes frente a los pequeños (descartando los valores intermedios). Las probabilidades acumuladas para copular en función del tiempo se pueden observar en la gráfica (**figura 1.3**), separados en función de la talla del macho, la de la hembra o el cociente. Mientras que no encontramos diferencias significativas entre machos grandes y pequeños (Estadístico de Wilcoxon=2,660; gl=1; p=0,103) ni entre hembras grandes y pequeñas (Estadístico de Wilcoxon=1,414; gl=1; p=0,218), sí parece que la probabilidad a lo largo del tiempo es diferente para las tallas relativas grandes (los machos son de un tamaño parecido a las hembras) que para las pequeñas (Estadístico de Wilcoxon=5,371; gl=1; p=0,020).

3.2- Experimentos competitivos en la cámara de cortejo

Realizamos un total de 60 experimentos con dos machos y una hembra en la cámara de apareamiento, distribuidos en cuatro tandas. En este caso las variables a considerar son las mismas que en los anteriores experimentos, es decir, talla de los individuos que participan en cada experimento (en mm o relativizada a la talla de la hembra), CL (en segundos) y MF (una frecuencia). Es interesante considerar, sin embargo, que en este experimento, a priori, el que un macho logre copular depende no solo de sus habilidades, sino también de las de su competidor.

3.2.1- Análisis de las variables

De nuevo recurriremos a test no paramétricos, puesto que los datos de talla no se ajustan a los requisitos necesarios para aplicar estadística paramétrica. Las tallas de las hembras se distribuyen como una normal, pero ni la talla del macho ni el cociente macho/hembra (ni ninguna de sus transformaciones usuales) lo hace (**tabla 1.0**). Por otro lado, tampoco se cumplen los requisitos de homocedasticidad entre tandas.

Respecto a la homogeneidad de los resultados entre las tandas lo primero que resalta es que en todos los experimentos se produjo la copula antes de que se completase el tiempo de grabación (900s). Por ello no tiene sentido preguntarse si hay diferencias de MF entre las tandas, porque en

todas ellas llegan a copular la totalidad las hembras y la mitad de los machos utilizados (y la otra mitad no), es decir, copula uno de los dos machos que se emplean en cada experimento.

El CL varió entre 40 y 890s, con un promedio de $248,76 \pm 17s$ (**tabla 2.1**). La segunda tanda presentó un tiempo medio inferior al de las otras tres ($168,6s$ frente a $318,8s$). El test de Kruskal-Wallis muestra diferencias significativas a este respecto entre las cuatro tandas (**tabla 2.2**), diferencias que desaparecen si no consideramos en el análisis a la segunda tanda ($\chi^2=1,799$; $gl=2$; $p=0,407$). De nuevo decidimos no excluir esa tanda de los posteriores análisis, pues ningún dato hace pensar que esta diferencia se deba a alguna causa ajena a las variables experimentales que controlamos.

La talla media de los machos en estos experimentos fue de $1,352 \pm 0,071$ mm y de $1,517 \pm 0,070$ mm la de las hembras. De nuevo en este caso hay diferencias en cuanto a la talla entre las tandas (**tabla 2.1**), diferencias que son significativas en lo concerniente a los machos ($\chi^2=16,685$; $gl=3$; $p<0,001$), pero no si hablamos de las hembras ($\chi^2=7,430$; $gl=3$; $p=0,119$) o de la talla relativa de los machos ($\chi^2=5,847$; $gl=3$; $p=0,059$). Aunque en este caso no son muy significativas las diferencias, también realicé análisis independientes para cada tanda además del análisis conjunto.

3.2.2- ¿Tiende a copular el macho mayor de cada pareja que compite por una hembra?

En primer lugar lo más inmediato para examinar en estos experimentos es si el tamaño del macho le confiere ventaja a la hora de copular. Para ello observamos las tallas, absolutas y relativas, de los machos que lograron copular y de los que no lo lograron, tanto en el conjunto de los datos como dentro de cada tanda (**tabla 2.3**).

En los experimentos en que hay competición, el análisis estadístico se complica porque el resultado obtenido por cada uno de los machos depende, a priori, del otro macho que le acompaña en la cámara. En una primera aproximación encontramos que el macho mayor copula el 53% de las ocasiones, lo cual no es diferente a la copula de uno u otro al azar (binomial $32/60$; $p=0,699$), y lo mismo ocurre cuando analizamos cada tanda de manera independiente (**tabla 2.3**).

Parece claro que el macho grande no es el que suele copular. Sin embargo antes de zanjar este asunto es importante valorar una consideración. Un macho puede ser mayor que otro por centésimas de milímetro o por varias décimas. Puesto que es sensato pensar que la cuantía de esta diferencia puede afectar al resultado pareció oportuno realizar análisis que considerasen la diferencia entre las tallas de un modo cuantitativo.

Para hacer un análisis cuantitativo en lugar de la talla de cada macho, utilizamos la diferencia de talla entre los machos (a-b), siendo “a” el macho que copula y “b” el que no. La media

de esta diferencia es de 0,012mm, siendo su intervalo de confianza al 95% desde -0,014 hasta 0,038 (incluye el cero). El que incluya el cero indica que no es significativamente distinta de cero, esto es, que no hay diferencias de tamaño significativas entre los machos que copulan y los que no. Y esto ocurre del mismo modo en cada tanda (**tabla 2.3**).

Esto es lo mismo que haber hecho “t test” pero con un enfoque algo diferente, a sabiendas de que la diferencia de las tallas no se distribuye como una normal, realicé varios test t analizando la posibilidad de que la diferencia de las tallas fuera significativamente distinta de cero. En ningún caso fue significativo (**tabla 2.3**).

Para corroborar este resultado, a priori sorprendente, realizamos el test de Wilcoxon para cada tanda y para el conjunto de ellas (**tabla 2.3**). El test de Wilcoxon es un test no paramétrico que nos permite comparar si la talla de los machos que copulan y los que no son diferentes, pero teniendo en cuenta qué macho compite con cuál. El test hace rangos con la diferencia de las tallas de los machos emparejados, con lo que, pese a no considerar exactamente diferencias cuantitativas, sí considera lo grande o pequeña que es la diferencia entre los machos. Los resultados para este test también resultaron no ser significativos ni para el conjunto de experimentos ($Z=-0,121$; $p=0,903$) ni analizando independientemente cada replica. Por tanto asumimos que la diferencia de tamaño no es ventajosa para un macho a la hora de copular en este tipo de experimentos.

Puesto que cabe la posibilidad de que ser de mayor tamaño que tu competidor favorezca que se logre copular quizá en un primer momento o, menos probablemente, al final del experimento repetimos estos análisis separando los experimentos en cuatro bloques. Cada bloque incluía 15 experimentos según el orden en que se fue dando la cópula, de modo que el primer bloque incluyó los 15 en que se llegó antes a la copula, y así sucesivamente. Tampoco en este caso encontramos que fuera el macho mayor el que copuló preferentemente (**tabla 2.4**) dentro de ninguno de estos 4 bloques.

Tratando de ver si las variables que manejamos pueden determinar las posibilidades de un macho para copular si se consideraban conjuntamente realizamos, de nuevo, una serie de regresiones logísticas. En este caso hay que tener en cuenta que, puesto que en todos los experimentos se llegó a copular, todas las variables que no se refieren exclusivamente al macho (es decir, las que no son: talla del macho, talla relativa, diferencia de talla entre los adversarios y diferencia relativa) no pueden directamente determinar que haya o no copula (puesto que estas variables presentan el mismo valor para ambos machos) y solo pueden afectar modificando el efecto que tienen las características del macho. Es por ello que estas variables (talla de la hembra, hora y replica) sólo aparecen en el modelo como interacciones de segundo orden sobre las primeras.

Ni la talla del macho, ni la diferencia de talla con su adversario, ni ninguna de las interacciones de alguna de estas dos variables con la talla de la hembra, la hora o la replica, permite por sí sola formular un modelo que prediga mejor el comportamiento del macho que el modelo nulo (**tabla 2.5**).

Pedimos de nuevo al programa que generase un modelo que considerase todas las variables e interacciones mencionadas y que fuese incorporando al modelo solo las variables que resultaran ser significativas. Se obtuvo un modelo significativo ($p=0,009$) en el que aparece la interacción de la hora en que se realizó el experimento con la diferencia, pero ninguna de estas variables por sí mismas. Un modelo que respete las reglas de jerarquía e incluya además estas dos variables resultó no ser significativamente más predictivo que el modelo nulo ($p=0,096$).

Cuando el proceso de filtrado consiste en que el programa descarte las variables poco significativas a partir de un modelo inicial que incluía todas las variables e interacciones vemos que descarta muy rápidamente todas las variables de primer orden, excepto la diferencia de las tallas de los machos. El resultado final es un modelo significativo que incluye esta diferencia y sus interacciones con la talla de la hembra, el bloque y la hora. Probamos diferentes modelos jerárquicamente bien contruidos que incluían una o varias de estas interacciones. Finalmente resultó significativo ($p=0,022$) un modelo que incluía la diferencia de talla de los machos, la talla de la hembra y la hora, además de las interacciones de estas dos últimas variables con la primera. Las variables significativas fueron la diferencia ($p=0,016$), las interacciones de ésta con la hora ($p=0,012$) y la talla de la hembra ($p=0,016$).

No es fácil, con dos interacciones, interpretar cómo afectan las variables a la probabilidad de copular. En principio parece, teniendo en cuenta el signo de los coeficientes, que el tener mayor tamaño que tu adversario aumenta tus posibilidades de copular, mientras que una hembra grande las reduce (y las reduce aún más si eres el macho grande). Por otro lado, respecto al efecto de las horas, parece ser que en los experimentos realizados en ZT6 el ser mayor no es beneficioso para copular, llegando incluso a ser perjudicial. Para comprender mejor los efectos de las interacciones hemos generado dos tablas (**tabla 2.6**) donde se estiman las probabilidades de copular de un macho dado (representado como la diferencia con respecto a su contrincante) ante hembras de diferentes tallas. Cada tabla corresponde al efecto de estas dos variables calculado en dos horas diferentes (las dos más extremas: ZT6 y ZT9). Además se presenta un gráfico (**figura 2.1**) donde están representadas las probabilidades que este modelo estima para los machos que usamos en los experimentos.

En cualquier caso este modelo no es excesivamente preciso. El $-2\log$ likelihood (menos dos veces el logaritmo de la verosimilitud) está bastante alejado de cero. Puesto que esta medida es poco intuitiva, baste entender que el modelo es capaz de ubicar correctamente el 63,3% de los casos, cuando el modelo nulo ubica correctamente al 50%.

3.2.3- ¿Difiere la talla de los animales que copularon al principio de los que lo hicieron al final?

La siguiente cuestión a resolver es averiguar si los animales (machos y hembras) que copularon al principio del experimento difieren en tamaño de los que copularon más tarde. Puesto que solo consideramos las moscas que copularon no consideré en estos análisis a los 60 machos que nunca llegaron a copular.

Para afrontar esta cuestión delimité tiempos en los que comparar las tallas de los animales que ya habían copulado con las de los que aún no lo habían hecho (pero que, con el paso del tiempo, finalmente lo harían). Los puntos elegidos fueron, de nuevo, los que delimitan los terciles y cuartiles de la frecuencia de copula, es decir, los tiempos en que se había producido la copula en el 25, 33,3, 50, 66,6, y 75% de los experimentos. De tal manera que, por ejemplo, en el primer punto de análisis comparé las tallas de los 15 machos y hembras que habían copulado en ese momento con los 45 que aún no lo habían hecho. Los resultados obtenidos se ven reflejados en la **figura 2.2**.

No encontramos diferencias significativas en el tamaño de los machos en ninguno de los puntos de análisis, aunque la tendencia que se observa es, claramente, a que los machos que ya han copulado tienden a ser mayores. Por el contrario las hembras que todavía no han copulado tienden a ser de mayor tamaño. En este caso hayamos diferencias significativas en la talla de las hembras que copularon al comienzo del experimento (**figura 2.2**) En concreto, son significativamente de menor tamaño (**tabla 2.7**) las hembras que copularon en el primer y tercer puntos de análisis(primer y segundo cuartil). También es significativamente mayor (su valor es más cercano a uno) el cociente macho/hembra en los experimentos en que se copuló más temprano (primer cuartil).

Repetir este análisis separando los datos en cada una de las tandas no tiene demasiado sentido, pues todas, excepto la segunda, aglutinan un numero bajo de experimentos (**tabla 2.1**). En esta segunda tanda (**tabla 2.8**) resultan significativamente mayores, en talla relativa a la hembra, los machos que copulan respecto a los que no en varios de los puntos de control (25, 33,3 y 50%).

3.2.4- ¿Hay relación entre el CL y la talla de las moscas?

Respecto a la posible relación entre el CL y las tallas, podemos observar que, en principio, no hay una asociación evidente entre ninguna de las variables que utilizamos y el CL (**figura 2.3**).

Un primer acercamiento a esta posible relación es analizar todas las posibles correlaciones entre el CL y las diferentes variables de talla que venimos teniendo en cuenta. El resultado indica

que no hay correlación entre ninguna de estas variables y el tiempo que transcurre hasta la copula ni para el conjunto de los datos ni dentro de cada tanda (**tabla 2.9**).

Siempre se podría pensar que la talla tiene importancia en un primer momento y que, entonces, correlacione con el CL. Para descartar esta posibilidad restringimos el análisis a las cópulas que se producen temprano, en un tiempo medio o tardíamente (**tabla 2.10**). De nuevo se puede afirmar que no hay correlación entre ninguna de las variables referentes a la talla que se han utilizado hasta ahora y el CL.

Realizamos de nuevo una serie de ANOVAs que nos permiten estudiar simultáneamente los efectos de distintas variables sobre el CL. De entre las posibles variables explicativas tomamos la hora y la réplica como cofactores y la talla de la hembra, del macho, la talla relativa del macho, la diferencia de talla entre los machos y la diferencia relativa de la talla de los machos como posibles covariables. De estas cinco diferentes covariables intentamos no utilizar simultáneamente variables que pudieran resultar redundantes (por ejemplo la talla de los machos y la talla relativa), de modo que en los modelos incluimos la talla de macho y hembra, o bien, la diferencia de las tallas de los machos y la talla de la hembra, o bien la talla relativa de los machos o bien, por último, la diferencia de las tallas relativas de los machos (**tabla 2.11**).

Partiendo de estos cuatro modelos base incorporamos, independientemente y en conjunto, las variables hora y talla y observamos los resultados. Se puede afirmar que, en general, resultan más explicativos los modelos en que la talla del macho aparece relativizada por la de la hembra. Además los modelos solo alcanzan un $R^2_{\text{corregido}}$ razonable si incluyen la variable tanda. Esta variable, por ser un cofactor, se evalúa como variable dummy. Esto nos permite saber que la tanda que resulta diferente de las demás es la segunda, tal como ya sabíamos por los análisis preliminares (el CL en la tanda 2 es significativamente menor que en el resto). Si realizamos estos mismos análisis excluyendo todos los experimentos de la segunda tanda los modelos pierden ajuste y, además, la variable tanda pierde su valor explicativo (**tabla 2.11**).

Al igual que hicimos con los datos de los experimentos sin competición podemos hacer bloques con las variables referidas a la talla, pasando así a ser cofactores y eliminando los problemas de “no normalidad”. En este caso hacemos tres bloques con cada variable, de modo que cada bloque incluya, aproximadamente, 20 experimentos, según las moscas podían considerarse grandes, medianas o pequeñas. Los resultados son muy parejos a los obtenidos tratando estas variables como continuas, con una cierta pérdida de ajuste en todos los casos. Puesto que alguna de las variables, en este caso, sí se distribuyeron normalmente (la talla de la hembra y la talla relativa de los machos) no era necesario realizar esta conversión en estas dos variables. Aún así, con el fin

de tratar los datos homogéneamente en los dos tipos de experimento, realizamos todas las posibles pruebas.

Buscando interacciones entre las variables que fueron explicativas probamos, dentro de los modelos que consideran la relación entre los machos que compiten (es decir, que incluyen la diferencia como variable), las distintas posibilidades de interacción entre las mismas. Para ello introdujimos al modelo previo una interacción y contrastamos el efecto de esta nueva variable sobre el modelo inicial. Los resultados fueron más prometedores cuando empleábamos las variables continuas “diferencia” y “talla de la hembra”. En los modelos que incluían estas dos variables y los cofactores “tanda” y “hora” probamos todas las interacciones posibles, siendo relevantes las tres interacciones que se pueden formar usando la diferencia, la talla de la hembra y la hora. De entre éstas el modelo se ajustó mejor cuando consideramos la interacción de la talla de la hembra con la hora.

Decidimos generar un modelo más complejo que introdujese dos de las tres posibles interacciones de estas tres variables (talla de la hembra, diferencia de las tallas, hora). Los tres nuevos modelos presentan un $R^2_{\text{corregido}}$ mayor que todos los anteriores, en el que son significativas las variables “tanda”, “hora” y “talla de la hembra x hora”.

Puesto que, como hemos dicho, la variable diferencia no se distribuye normalmente, la separamos en tres bloques correspondientes con casos en que ambos machos eran de tamaño parejo (machos en que el macho que copuló era el mayor y machos en que éste era el menor). Los tres modelos se ajustan de nuevo algo mejor a los datos, manteniendo su relevancia las variables “tanda” y “hora”. Sin embargo, cuando en estos modelos excluimos la segunda tanda, su $R^2_{\text{corregido}}$ mejora (consideremos o no la variable “tanda”), aunque ninguna variable resulta significativa en sí (**tabla 2.12**), pero sí el conjunto.

3.3- Efecto de la competición entre machos en los experimentos realizados en la cámara

Para observar el posible efecto de la presencia de un segundo macho sobre el MF y el CL realizamos una serie de comparaciones entre los dos tipos de experimentos hechos en la cámara, que son los dos que hemos mencionado hasta ahora. El tamaño medio de los machos utilizados para los dos experimentos fue de $1,343 \pm 0,084\text{mm}$ y no hay diferencias significativas en la talla media de los machos que participaron en uno u otro experimento ($U=8613,5$; $Z=-1,136$; $p=0,256$). La talla media de las hembras fue de $1,501 \pm 0,086\text{mm}$ y tampoco encontramos diferencias entre los dos experimentos ($U=3932$; $Z=-1,818$; $p=0,069$). La casi significación de esta diferencia es debida a que

las hembras de la sexta réplica del experimento sin competición eran menores ($1,392 \pm 0,014 \text{ mm}$) y si descartamos esta réplica a la hora de hacer la comparación, la significación mejora ($U=7523$; $Z=-0,485$; $p=0,628$). Aún así empleamos todas las moscas, sin descartar ninguna tanda.

Hay una gran diferencia en la frecuencia de cópula entre los experimentos con y sin competición. Mientras que en los experimentos con competición copuló uno de los dos machos en todos los casos (100%), en los experimentos sin competición se produjo la cópula en el 85,3% de los casos. Un test χ^2 nos muestra que hay una vinculación entre la presencia de un segundo macho y la frecuencia copulatoria ($\chi^2=9,9$; $gl=1$; $p=0,002$). Los tiempos medios transcurridos hasta la cópula son, para experimentos con uno o dos machos, de $280,48 \pm 17,14 \text{ s}$ y $248,77 \pm 27,00 \text{ s}$ respectivamente. El test de Mann-Whitney no muestra diferencias en el CL entre los dos tipos de experimentos ($U=3495$; $Z=-1,378$; $p=0,168$).

El posible efecto de la presencia de uno o dos machos sobre el CL se puede afrontar, de nuevo, desde la perspectiva del análisis de supervivencia. Cuando comparamos los experimentos en que hay uno o dos machos hayamos diferencias en la función de supervivencia (Estadístico de Wilcoxon= $8,306$; $gl=1$; $p=0,004$). Tal como se observa en el gráfico, (**figura 3.1**) la presencia de dos machos facilita el que se dé antes la copula.

Podemos complicar este análisis incluyendo un factor, el tamaño. Analizamos el efecto de la talla de la hembra y la del macho (tanto su talla en mm como su talla relativa). Para categorizar como macho grande o pequeño en los experimentos en que intervenían dos machos decidimos considerarlos grandes si ambos superaban la talla máxima del grupo de machos agrupados como pequeños. Del mismo modo para considerar que los machos eran pequeños en los experimentos con dos machos, ambos debían ser menores que el menor de los machos considerados grandes. Los valores utilizados aparecen resumidos en la **tabla 3.1**.

Tenemos por tanto cuatro situaciones que comparar entre sí. Estas comparaciones se reflejan gráficamente en la **figura 3.2**, y los resultados estadísticos aparecen recopilados en las tablas recogidas en la **tabla 3.2**. Parece que los experimentos realizados con un macho pequeño en solitario dificultan que se dé la cópula, tanto si consideramos la talla relativa como la absoluta. Sin embargo la presencia de dos machos pequeños aumenta las posibilidades de que se produzca la cópula, aunque este efecto desaparece si lo que se considera es la talla relativa. En cuanto a las hembras, el que una hembra grande se enfrente a un solo macho dificulta significativamente que se produzca la cópula.

3.4- Experimentos con competición utilizando machos de dos genotipos diferenciables

Realizamos un total de 360 experimentos bajo las dos condiciones experimentales mencionadas. Descartando aquellos experimentos en que escapó o falleció alguno de los tres animales en el transcurso del proceso nos quedaron 206 experimentos de los realizados a 25°C y 141 de los realizados a 18°C.

En primer lugar, antes de entrar en los resultados, hay que realizar una consideración referida a la interpretación de los mismos. Se puede entender que tratamos de medir qué características referidas a una pareja de machos hacen que uno de ellos llegue a copular. Pero también se pueden entender del siguiente modo: qué factores hacen que un macho wt sea el que copule cuando trata de aparearse con una hembra en la presencia de un segundo macho.

Una de las variables a tener en cuenta en este tipo de experimentos es, desde luego, la talla de las moscas, de nuevo dos machos que compiten y una hembra. Además hay que tener en cuenta el genotipo de los machos, que muy probablemente afecte al éxito reproductivo. Aparte de las variables referidas a las moscas participantes hay que considerar la tanda dentro de cada condición.

La variable dependiente sería, en este caso, el resultado del experimento. Esta variable, que se refiere a la descendencia que queda en el tubo, es una variable cuantitativa que puede presentar cuatro resultados. El primero de ellos es que no haya descendencia. Esto podría querer decir que esa hembra no copuló con ninguno de los dos machos o bien que era estéril, aunque para nosotros siempre querrá decir lo primero. Una vez que en el tubo hay descendencia, la variable puede tomar tres valores, que serían que la descendencia es de un único genotipo, wt o cv, o bien que hay moscas de ambos genotipos presentes. Estos resultados los interpretamos como que la hembra copuló con un único macho, wt o cv, o con ambos machos. Desde luego nada certifica que en los casos en que hay un solo genotipo presente no sea una cuestión de azar o de algún fenómeno fisiológico, como el desplazamiento del esperma que haga que en el momento de analizar el tubo solo parezca un genotipo.

Las variables referidas a la talla también conllevan un problema adicional en estos experimentos. Por el diseño experimental, las hembras permanecieron más días en los tubos y por ello la cantidad de alas completas y medibles que pude tomar es sensiblemente menor que la de los machos. Por otro lado, puesto que es un experimento con competición, no parece indicado utilizar los datos de machos si dispongo de la talla de su competidor. Por ello en los análisis estadísticos utilizamos solamente datos de los experimentos en que teníamos la medida de ambos machos,

independientemente de si se disponía o no de la talla de la hembra. Esto causa un cierto descenso en el número de los experimentos que se pueden considerar (**tabla 4.1**). Los experimentos se realizaron en 5 tandas que incluyen experimentos realizados en ambas condiciones.

3.4.1- Análisis de las variables

Como en los anteriores experimentos, la distribución de las variables de talla no se ajustó a una distribución normal (**tabla 1.0**), como tampoco lo hicieron sus transformaciones matemáticas usuales. Tampoco las varianzas son homogéneas entre las 5 tandas. Por ello, de nuevo, recurrimos a la estadística no paramétrica.

La talla media de las hembras (n=250) fue de $1,483 \pm 0,132$ mm. La talla media de los machos (n=282) fue de $1,345 \pm 0,090$ mm para los wt y de $1,333 \pm 0,112$ mm para los cv. En principio los machos wt son ligeramente mayores que los cv, aunque esta diferencia de tamaño entre los dos genotipos no es significativamente diferente ($U=37033,5$; $Z=-1,410$; $p=0,159$). En nuestros tubos, en los que los emparejamientos se realizaron aleatoriamente, el macho wt resultó ser el mayor en el 52,8% de los casos.

A continuación consideramos las posibles diferencias de tamaño de las moscas entre las tandas en que se realizó el experimento. Las tallas medias (**tabla 4.2**) para cada tanda son diferentes tanto para las hembras como para los machos wt o cv (**tabla 4.3**), por lo que de nuevo debemos tener la precaución de hacer un análisis para cada tanda además de uno que incluya a todos los experimentos.

De cara a garantizar que los resultados obtenidos a 18 y 25°C son legítimamente comparables, estudiamos si las tallas de las moscas entre las dos condiciones experimentales se pueden considerar homogéneas (**tabla 4.2**). El resultado fue que no encontramos diferencias significativas en la talla de las hembras (n=250) entre las dos condiciones (**tabla 4.3**). Comparando la talla de los machos (n=282) que participaron en una u otra condición, tampoco hallamos diferencia entre los machos cv pero sí entre machos wt, aunque de forma muy poco significativa ($p=0,045$). Tal diferencia no existe al considerar las tallas relativas de los machos, si bien es cierto que el número de animales que se consideran en estos análisis es algo menor (pues no se puede calcular la talla relativa del macho en los experimentos en los que no se dispone de talla de la hembra). Al comparar la talla absoluta del macho wt en los experimentos en que disponemos de talla de la hembra la diferencia dejó de ser significativa ($U=6704$; $Z=-1,540$; $p=0,124$).

Es importante de cara a la validez de las conclusiones que las moscas hayan sido emparejadas aleatoriamente, esto es, que no exista correlación entre sus tallas. Al analizar esta circunstancia, encontramos que no hay correlación entre las tallas de los machos que emparejamos, tanto si lo analizamos utilizando la totalidad de los experimentos como si lo calculamos por separado en cada tanda (**tabla 4.4**). Sí existe correlación entre la talla del macho cv y la hembra. Esta correlación es fruto de que tanto el macho cv como la hembra (también cv) se desarrollaron en los mismos tubos en idénticas condiciones y por tanto su talla se ha visto afectada por los mismos factores. Si la tanda tenía, por ejemplo, la talla media significativamente menor que el resto para las moscas cv (machos y hembras), al analizar los datos en su conjunto parece que se han emparejado siempre moscas pequeñas entre sí. Esta explicación la corrobora el hecho de que la correlación ♀-♂cv desaparece cuando analizamos las correlaciones por separado para cada tanda.

Tal como habíamos encontrado en nuestros experimentos previos, la proporción de hembras que copulan con un macho, con dos o con ninguno varía mucho entre las dos condiciones experimentales. Se puede afirmar que en los tubos mantenidos durante 4 días a 18°C aumentó la cantidad de hembras que copulan con los dos machos y disminuyó mucho la de hembras que permanecían vírgenes al concluir los experimentos, con respecto a los tubos que estuvieron un día a 25°C (**figura 4.1**). Las diferencias en este sentido entre ambas condiciones son muy significativas ($n=347$; $\chi^2=89,599$; $gl=3$; $p<0,001$). Dentro de cada una de las condiciones no hallamos diferencias entre las tandas en cuanto a las proporciones de cada tipo de resultado obtenido (segunda tabla de la **figura 4.1**).

3.4.2- ¿Qué distingue los tubos en que hubo cópula?

En primer lugar nos interesamos por las posibles diferencias entre los tubos en los que se produce la cópula y en los que no. Para ello es preferible fijarnos en los experimentos realizados a 25°C, puesto que en los de 18°C el porcentaje de experimentos en que no se dio la cópula fue solamente del 6,67%.

Utilizando por tanto los experimentos realizados a 25°C comparamos la talla de los machos y de las hembras entre los experimentos en que se produjo la cópula (54,94%) y los que no (45,06%). No hay diferencias significativas en ninguna de las variables referidas a la talla que hemos utilizado para comparar ambos grupos (**tabla 4.5**). Estas variables son el tamaño de las hembras y el de los machos wt y cv, el tamaño relativo (a la talla de la hembra) de ambos machos, la diferencia absoluta y relativa de la talla de los machos y la suma de sus tallas. Estas variables de

talla “derivadas” buscan encontrar si el hecho de que un macho sea mayor que el otro (diferencia) o que ambos machos sean relativamente grandes (suma) afecte a que la hembra se decida a copular con cualquiera de ellos.

Tal como hemos hecho hasta ahora, buscamos posibles diferencias en este mismo sentido dentro de cada tanda (**tabla 4.5**). Encontramos alguna diferencia significativa en dos de las tandas. En la tercera tanda las hembras que copularon fueron significativamente menores que las que no lo hicieron. En la quinta tanda la talla del macho wt y la suma de la talla de los machos fue significativamente mayor en los casos en que se había copulado con respecto a los que no. En este caso, de nuevo, nos encontramos con la limitación de no poder estudiar el efecto de la talla relativa para todos los casos, pues carecemos de la talla de la hembra para algunos de ellos.

Una vez más intentamos considerar varias de las variables simultáneamente, realizando una serie de regresiones logísticas. Las variables incluidas fueron todas las referidas a las tallas utilizadas previamente, así como la tanda. Ninguna de ellas resultó ser útil para generar por sí sola un modelo explicativo (**tabla 4.6**).

Antes de considerar posibles interacciones entre las variables nos encontramos con el problema de que el número de experimentos que utilizamos cuando se incluye la talla de la hembra es considerablemente menor. Este hecho en la quinta tanda tiene una consecuencia curiosa. Por azar la mayor parte de las tallas de hembras que no se pudieron tomar fue en experimentos en que la hembra, finalmente, no copuló. Si incluimos sólo los experimentos para los que hay talla de la hembra, pasamos de tener un 27,6% de hembras que no copulan a un 5,3%. Esta reducción considerable provoca que cuando se considera la talla de la hembra, esta tanda sí difiera significativamente de las demás en cuanto al porcentaje de experimentos en que finalmente se copuló ($\chi^2=13,341$; gl=4; p=0,010). En el resto de tandas se mantienen porcentajes semejantes a los que se dan cuando no se considera la talla de la hembra. La única solución para este problema es no emplear para los análisis que vienen a continuación la quinta tanda.

Ninguna de las variables por sí misma generó un modelo significativo una vez que realizamos los análisis habiendo descartado la quinta tanda (**tabla 4.6**). Tampoco ninguna de las interacciones de variables de dos en dos dio ningún resultado positivo. Sin embargo al correr un modelo en el que se incluyeron todas las variables que veníamos barajando y pidiendo al programa que descartase las variables menos significativas, se generó un modelo casi significativo, capaz de ubicar correctamente el 60,9% de los casos (el modelo nulo ubica correctamente el 51,6%). En este modelo se consideran como variables la talla de la hembra, la talla del macho cv y la interacción entre ambas variables, pero expresado como cociente (esto es, la talla relativa del macho cv). En el modelo, además, son significativas las tres variables consideradas.

En principio, atendiendo al signo del coeficiente que corresponde a cada variable, se puede decir que un aumento en la talla del macho cv aumenta las posibilidades de copular, mientras que el aumento de la talla de la hembra y de la talla relativa del macho lo disminuye. Puesto que el coeficiente negativo de la variable “talla relativa del macho cv” presenta mayor valor absoluto que el positivo de la variable “talla del macho cv” se puede decir que un aumento en la talla del macho es, en general, perjudicial para la probabilidad de copular. Sin embargo, puesto que una de las variables que incluye el modelo deriva directamente de las otras dos, el resultado final de cómo se relaciona la talla relativa con la probabilidad estimada es algo más complejo (**figura 4.2**).

3.4.3- ¿Por qué la hembra copula con un macho y no con el otro?

El siguiente foco de interés es estudiar que causa que, en los casos en que copula solamente uno de los dos machos, sea uno o el otro el que lo logre. Para ello utilicé los experimentos en que copula uno de los dos machos tanto a 25°C (n=87) como a 18°C (n=93).

En los experimentos realizados a 25°C la hembra copuló con el macho wt el 92%, mientras que en los realizados a 18°C esto ocurrió el 73% de las ocasiones. Esta diferencia entre ambas condiciones es significativa ($\chi^2=10,910$; gl=1; p=0,001). También podemos comparar entre ambas condiciones el número de veces que tiende a copular el macho mayor de los dos que compiten. Copula el macho más grande el 53% de las ocasiones a 25°C y el 57% a 18°C, y esta diferencia entre ambas condiciones no es significativa ($\chi^2=0,308$; gl=1; p=0,579). Este resultado pudiera hacer pensar que, en general, tiende a copular el macho wt y que, simplemente, en los experimentos a 25°C el macho wt es el mayor en menos ocasiones. Y, sin embargo, el macho wt en los tubos que se mantuvieron a 25°C era mayor el 56% mientras que fue el 49% de las veces en los tubos a 18°C.

El análisis pormenorizado de los posibles efectos del genotipo y de la talla, absoluta o relativa, sobre el hecho de que finalmente consiga copular un macho dado, los analicé por separado para cada condición.

3.4.3.1- Experimentos realizados a 25°C

Entre los experimentos realizados a 25°C lo que en primer lugar llama la atención es que el macho wt fue el que copuló el 92% de las ocasiones, lo que está muy por encima de una posible distribución equitativa de los apareamientos entre ambos genotipos. Esto también es así en cada una de las cinco tandas (**tabla 4.7**). Es decir, la tendencia que se observa es a que copule el macho wt. Y

esta ventaja no es debida a su talla, pues el macho wt es el mayor solamente en el 56% de los emparejamientos.

Es interesante considerar que, independientemente de cual sea su genotipo, el macho mayor es el que copula el 53% de las ocasiones, lo cual está bastante cerca de la equiprobabilidad. Considerando independientemente cada tanda tampoco hallamos una tendencia significativa a que copulase el mayor (**tabla 4.7**).

Que no copule mayoritariamente el macho mayor no quiere decir que tener mayor tamaño no confiera alguna ventaja a la hora de aparearse. Simplemente sólo las diferencias relativamente grandes podrían ser las que confirieran cierta ventaja, mientras que si los contrincantes son de talla semejante tal ventaja no se apreciaría. Una primera aproximación cuantitativa a la ventaja de la talla es analizar la diferencia de tallas (macho copula – macho no copula). Esta diferencia se distribuye como una normal (Estadístico de Shapiro-Wilks=0,992; gl=87; p=0,869) y, por tanto, es legítima una aproximación paramétrica (**tabla 4.8**). El análisis nos indica que la diferencia no es significativamente distinta de cero para el conjunto de los resultados ($t_{86}=1,137$; p=0,259). Sin embargo, tanda a tanda sí encontramos varias ocasiones en que la diferencia es significativamente distinta de cero, pero el signo de dicha diferencia varía de tanda a tanda. Esto es, a veces la media de los machos que copulan es mayor que las de los que no y viceversa. La diferencia de tallas relativizadas se comporta, lógicamente, exactamente igual. Dividir la diferencia de las tallas por la talla de la hembra no cambia, desde luego, el signo de esta diferencia aunque acerca a cero el valor absoluto de dicha diferencia.

Podemos analizar si al limitarnos a las diferencias de tallas más extremas éstas afectan a la posibilidad de copular. Para ello realizamos el análisis prescindiendo de las diferencias menores (del tercio de éstas que presenta menor valor absoluto). Los resultados obtenidos indican que tampoco son distintas de cero las medias de la diferencia de la talla del que copula menos el que no lo hace, tanto si se refiere a tallas absolutas como a relativas (últimas filas de la **tabla 4.8**).

Aunque la diferencia entre las tallas, es decir, lo mayor que es un macho con respecto a su contrincante, no afecta a la probabilidad de que un macho en estas condiciones logre copular, sí puede ocurrir que otros factores relacionados con la talla de los machos o de la hembra afecten a la copula. Podría no ser importante que un macho sea mayor que otro pero sí que alcance un cierto tamaño mínimo (o máximo). Y, desde luego, también puede ser que la talla de la hembra afecte para optar por uno u otro macho. Por ello analizamos, en este caso con un test no paramétrico, las diferencias en distintas variables referidas a la talla (**tabla 4.9**) en función de que finalmente copulase el macho wt o el cv. No hallamos diferencias significativas en la talla de hembras que escogen wt o cv, ni son distintos los tamaños de los wt que logran copular frente a los que no.

Tampoco hay diferencias entre los machos cv, ni tampoco si analizamos las tallas relativizadas por la talla de la hembra para ninguno de los dos genotipos de machos, ni las diferencias de un genotipo frente al otro (**tabla 4.9**). Este último análisis no debería pasar desapercibido. Si entendemos esta serie de experimentos como que estamos midiendo la capacidad de un macho wt para imponerse sobre un competidor encontramos que esta capacidad no mejora con el tamaño del macho. Desde luego este resultado siempre puede interpretarse como debido a la extrema debilidad de los machos cv.

Tratando de evaluar simultáneamente el efecto de diferentes variables (genotipo, talla, etc.) sobre que la hembra copule con un macho dado, generamos una serie de regresiones logísticas. Puesto que sólo estamos utilizando los experimentos en que finalmente copuló uno de los dos, hay una serie de variables, como la talla de la hembra, la diferencia de talla entre los dos machos o la tanda, que presentan el mismo valor para cada par de machos que participan en un experimento, tanto si copula como si no. Por tanto, tal como ocurrió en los experimentos grabados en placa con competición, estas variables sólo pueden aparecer como interacciones. Las variables referidas a la talla, absoluta o relativa, así como al genotipo del macho no sufren estas restricciones. De nuevo nos encontramos con el conflicto de que, al no disponer de un valor para la talla de la hembra en todos los experimentos, el número de experimentos que podemos utilizar para los análisis es algo inferior cuando queremos considerar la talla de ésta.

Realizamos regresiones logísticas para las tres variables que podemos tratar independientemente y sólo resultó significativa para determinar que un macho logre copular su genotipo. Al introducir algunas de las variables como interacción logramos modelos significativos mientras no se incluya la variable “genotipo” (**tabla 4.10**). Cuando en cualquiera de estos modelos consideramos esta variable, todas las demás pierden su significación. Si pedimos al programa que incorpore del total de las variables sólo aquellas que van resultando significativas, solo incluye el genotipo. Si le pedimos que descarte las variables que resultan menos significativas genera finalmente un modelo que no respeta las reglas de jerarquía, pues incluye solamente la interacción “talla hembra x genotipo”. En el modelo jerárquicamente bien construido nos permite estimar unas probabilidades de cópula en relación con estas dos variables que venimos considerando (**figura 4.3**). Como se puede observar la variable “talla de la hembra” apenas afecta a la probabilidad de copular y la diferencia real la marca el genotipo del macho.

En todos los análisis llevados a cabo en este último apartado (diferencias referidas a las tallas entre los casos en que la hembra copula con el macho wt frente a los que lo hace con el cv en los experimentos realizados a 25°C) el número de casos en que ella copuló con el cv (n=7) no contribuye a la fiabilidad de los análisis de las posibles diferencias.

3.4.3.2- Experimentos realizados a 18°C

A continuación pasamos a realizar una serie de análisis, idénticos a los llevados a cabo en el anterior apartado, para los experimentos que permanecieron 4 días a 18°C. Consideraremos de nuevo solamente los experimentos en que la hembra copuló sólo con uno de los dos machos ($n=93$), para tratar de ver qué características facilitan que un determinado macho copule. En estos experimentos, el porcentaje de veces que copula el wt es del 73,2%, lo que es significativamente diferente a que escoja aleatoriamente entre uno y otro genotipo (**tabla 4.7**). Es importante considerar que, de nuevo, no es significativo el número de veces que el macho wt supera en tamaño al cv (49,5% de las ocasiones). En este caso tampoco tiende la hembra a copular con el macho mayor (53/93; $p=0,213$) excepto en la segunda tanda, en que este hecho sí ocurre de un modo significativo (20/24; $p=0,002$).

De nuevo es posible que, aunque como promedio no tiende a copular en más ocasiones el macho mayor, sí es posible que diferencias grandes de talla favorezcan la cópula. De ser así es posible que la media de la diferencia entre el macho que copula y el que queda sin hacerlo en cada tubo sea positiva y diferente de cero. Puesto que, de nuevo, la diferencia de las tallas en milímetros se distribuyen como una normal (Estadístico de Shapiro-Wilks=0,979; $gl=93$; $p=0,133$) es legítimo aplicar un test paramétrico. Sin embargo, en este caso, la diferencia de las tallas relativas no sigue esta distribución (Estadístico de Shapiro-Wilks=0,963; $gl=82$; $p=0,018$). Es por ello que aplicamos tanto los test paramétricos como los no paramétricos para ambas variables.

Encontramos que, para el conjunto de experimentos, resulta significativa (distinta de cero) y positiva la diferencia entre las tallas del macho que copula y el que no ($t_{92}= 2,45$; $p=0,016$), así como en dos de las 4 tandas (**tabla 4.8**). En cuanto a la talla relativa, la prueba de los rangos de Wilcoxon nos dice que para el conjunto de los experimentos no hay diferencias significativas de talla entre el macho que copula y el que no (**tabla 4.11**). Atendiendo a las diferencias dentro de cada tanda vemos que en dos casos la diferencia es significativa, pero de distinto signo (esto es, en la tanda segunda tienden a copular los machos de talla relativa baja, mientras que en la tanda tercera tiende a copular el grande).

Cuando analizamos los tubos en que las diferencias son más extremas, descartando el tercio de experimentos que presenta menores diferencias absolutas entre contrincantes, encontramos que el macho que copula es mayor que su contrincante, tanto si consideramos su talla relativa como la absoluta (últimas filas de la **tabla 4.8** y de la **tabla 4.11**)

Parece claro, pues, que a diferencia de lo que ocurría a 25°C, la diferencia de tallas entre contrincantes sí desempeña un cierto papel a la hora de determinar quién de los dos copula. De nuevo tratamos de evaluar si esta circunstancia se refleja en alguna de las variables referidas a la talla que venimos utilizando (**tabla 4.12**). Hay varias diferencias que resultan significativas en el conjunto de los datos. Las hembras que copulan con machos wt suelen ser mayores que las que lo hacen con machos cv. Por otro lado los machos wt que copulan tienden a ser de mayor tamaño que los machos wt de tubos donde copuló el macho cv. Por último la diferencia talla wt – talla cv es positiva cuando copula el wt (es decir, cuando copula el wt éste, además, suele ser de mayor tamaño) y negativa cuando copula el cv (esto es, al igual que ocurre con los machos wt cuando el que copula es un macho cv suele tener mayor tamaño que su contrincante). La **figura 4.4** nos permite apreciar gráficamente estas diferencias, algunas de ellas muy significativas.

En primer lugar prestamos atención a las posibles diferencias entre las hembras (n=82) que copulan con wt o con cv. Como ya hemos dicho, la talla de las hembras que copulan con un macho cv es significativamente menor que la de las que copulan con un wt (**figura 4.4**). Sin embargo, este fenómeno no se reproduce luego en cada una de las tandas (**tabla 4.12**).

Mientras que el tamaño de los machos cv no es diferente entre los tubos en que estos han copulado o no, el tamaño promedio de los machos wt que copulan resulta mayor que si no lo hacen. Esta diferencia tan acusada la encontramos solamente en la segunda tanda, en la que la varianza de las tallas de los machos wt es considerablemente mayor (**tabla 4.12**). Se produce el curioso fenómeno de que, mientras los machos que copulan en esta tanda son del mismo tamaño que los machos wt utilizados en las otras tandas, los machos wt que no copulan son de tamaño muy inferior (**figura 4.5**).

De nuevo, en un intento de considerar varias variables simultáneamente, realizamos una serie de regresiones logísticas. Tal como ocurrió con los experimentos realizados a 25°C muchas de las variables no varían entre el macho que copula y el que no, pues ambos contrincantes comparten valores en las variables “tanda”, “diferencia de talla” y “talla de la hembra”. Estas variables sólo las podemos tener en cuenta cuando interactúan con las variables únicas de cada macho, como su genotipo o su talla (relativa o absoluta). De nuevo, volvemos a no disponer de la talla de la hembra para todos los tubos, con lo que cuando se considere esta variable o variables derivadas de ella (como la talla relativa) el número de experimentos utilizados para el análisis es algo inferior.

De las tres variables que pueden actuar por sí mismas, la talla del macho y el genotipo dan modelos suficientemente predictivos, no así la talla relativa (**tabla 4.13**). De hecho, un modelo que incluye ambas variables simultáneamente y su interacción es aún más predictivo. Por sí mismas

parece que la variable “genotipo” es más potente que cualquiera de las referidas a la talla. En cuanto a las variables que sólo podemos introducir haciéndolas interactuar con las anteriores, las tres, “tanda”, “talla de la hembra” y “diferencia wt-cv”, resultan significativas en sus interacciones con “genotipo” y “talla del macho”. De entre ellas producen mejores resultados las interacciones de cualquiera de las tres con el genotipo y la mejora más clara la produce la introducción de “genotipo x diferencia wt-cv”.

Cuando pedimos que el programa nos seleccione un modelo descartando variables introduciendo todas las posibilidades que hemos citado, resulta un modelo que no cumple las normas de jerarquía. Aún así es interesante considerar en qué orden introduce el programa las variables: introduce en pasos sucesivos “talla hembra x genotipo”, “diferencia x genotipo” y “diferencia x talla macho”.

Si lo que pedimos es que descarte variables, las que finalmente permanecen en el modelo son “talla del macho”, “diferencia wt – cv”, “genotipo x diferencia”, “tanda” y “genotipo x semana”. Evidentemente no parece sencillo llegar a un consenso que además esté jerárquicamente bien construido considerando este variado grupo de variables.

Combinando estos grupos de variables en modelos jerárquicamente bien construidos encontramos que ninguno de ellos mejora sensiblemente los dos modelos más precisos que habíamos generado hasta ahora. El primero de ellos incluye la talla del macho, su genotipo y la interacción entre ambos y ubica correctamente el 75,8% de los casos. El segundo modelo incluye como variables el genotipo, la diferencia de talla de los machos y su interacción con el genotipo. Este segundo modelo ubica correctamente el 75,3% de los casos. Mostramos los valores predichos por ambos modelos sobre datos ficticios y reales en la **figura 4.6**.

Es muy interesante comprobar que, para los mismos experimentos, las probabilidades que estiman los dos modelos no correlacionan demasiado bien (tercera gráfica de la **figura 4.6**). El modelo que incluye la talla pronostica muy poca variación en la probabilidad de cópula para el macho cv, que en muy pocas ocasiones obtiene una probabilidad mayor que el cv. El modelo que atiende a las diferencias, por el contrario, pronostica probabilidades algo mayores para los machos cv. Es interesante el hecho de que las líneas de probabilidad se crucen en un punto en que la diferencia es negativa. Esto quiere decir que el macho wt empieza a tener más posibilidades de copular que el cv antes de que éste le supere en talla.

3.5- Efecto de la posibilidad de elegir pareja sobre la talla de la descendencia

El objetivo primero de estos experimentos es comparar el efecto que tienen sobre la descendencia dos situaciones: que los hijos sean fruto de un emparejamiento al azar o bien que los progenitores hayan tenido la opción de elegir entre varios posibles candidatos.

Realizamos los experimentos en tres tandas que son un poco diferentes entre sí. La primera tanda constaba de 20 tubos con emparejamientos aleatorios, un tubo con 10♀ y 20♂, 2 tubos con 10♀ y 30♂ y un tubo con 10♀ y 40♂. Las tres condiciones con más de un macho por hembra presentaban, respectivamente, dos, tres o cuatro machos para cada una de las hembras. Es decir, que la densidad de macho por hembra fue de dos machos por hembra (1♀:2♂), tres machos por hembra (1♀:3♂) o cuatro (1♀:4♂) respectivamente. En los experimentos en que no hay elección, la densidad es de un macho por hembra (1♀:1♂).

En la segunda tanda realizamos 18 emparejamientos aleatorios, un tubo 15♀:30♂ (densidad 1♀:2♂) y dos tubos 10♀:30♂ (densidad 1♀:3♂). Renunciamos a realizar experimentos con cuatro machos por hembra porque, como veremos más adelante, el número de machos resultaba perjudicial para la descendencia obtenida y analizar esto no era nuestro propósito principal. Es importante notar que, además, variamos el número de hembras (y, por tanto, de machos) en la densidad 1♀:2♂. Esto nos permitió contrastar si era el número de machos totales o el número de machos por hembra lo que afectaba a la talla de la descendencia.

Por último, la tercera tanda fue un intento de comprobar si, aún en una situación extrema, se reproducían los resultados obtenidos en las dos primeras. En primer lugar utilizamos machos y hembras que, a simple vista, eran lo más semejantes posible en su tamaño, en un intento por dificultar la elección de la hembra si ésta dependiera de su talla/capacidad para huir. En segundo lugar de entre estas moscas seleccionamos los machos y hembras más pequeños para utilizarlos en el experimento en que las hembras podían elegir. La tanda incluyó 30 tubos “sin elección” y un tubo con 15♀:45♂ (densidad 1♀:3♂).

3.5.1- Análisis de las variables

De cara a decidir qué tipo de análisis estadístico realizar, calculamos la desviación de la normalidad de las tallas y su homocedasticidad entre las tres tandas, tanto para los padres como para los hijos. El resultado, presentado en la **tabla 1.0**, fue, como de costumbre, que los datos incumplen las condiciones para realizar análisis paramétricos.

La talla media de los machos utilizados para estos experimentos fue de $1,346 \pm 0,059$ mm y de $1,489 \pm 0,083$ mm para las hembras. Antes de analizar los resultados, es decir, antes de ver si el que exista la posibilidad de elegir pareja afecta a la talla de la descendencia, es importante certificar la homogeneidad de las tallas de padres y madres tanto entre las tandas como entre las densidades (para cada tanda). Las tallas de los padres y madres están reflejadas en la **tabla 5.1**.

Primero comprobamos que las tallas de machos o hembras, lógicamente, no son iguales entre las tres tandas: la tercera presenta tanto hembras como machos de menor tamaño (**tabla 5.2**). En cierto sentido es lógico que las hembras presenten un tamaño menor, puesto que en esta tanda seleccionamos machos y hembras de talla parecida. Sin embargo los machos deberían haber sido algo más grandes y quizá esto no ocurre porque, a la vez, intentamos seleccionar los machos y hembras más pequeños para el experimento de $15\text{♀}:45\text{♂}$. De hecho estas diferencias de tamaño de los machos no se detectan cuando sólo se tienen en cuenta los experimentos $1\text{♀}:1\text{♂}$.

No hallamos diferencias de talla significativas entre las dos tandas iniciales comparando padres o madres. Las tallas de los sujetos utilizados como padres y madres en las diferentes densidades también eran homogéneas (**tabla 5.2**).

Por otro lado cuando dentro de cada tanda analizamos si los individuos que habíamos utilizado en las diferentes densidades eran de distinto tamaño, encontramos que ni en la primera ni en la segunda tanda había diferencias (**tabla 5.3**). En la tercera tanda, en lo referente a la talla de los machos, tal como pretendíamos, éstos fueron significativamente más pequeños en el experimento en que las hembras podían elegir. Por el contrario fracasamos en la selección a simple vista de hembras pequeñas, pues el tamaño de estas no era diferente entre las dos densidades (**tabla 5.3**).

3.5.2- Efecto del aumento del número de machos sobre la supervivencia y fertilidad de las hembras

Es interesante analizar el efecto de la densidad/cantidad de los machos sobre la viabilidad y fertilidad de las hembras. Para ello consideramos el número de hembras que habían fallecido antes del cambio a tubos individuales y también en cuántos de estos tubos finalmente no quedó descendencia. Lamentablemente no recogimos información sobre si en los tubos en que no hubo descendencia la hembra parecía sana o no.

La supervivencia de las hembras no es diferente si comparamos las cuatro densidades con las que trabajamos (**tabla 5.4**), ni para el conjunto de las tandas ni en cada una de ellas. La supervivencia va desde el 100% al 77,7% de las hembras empleadas. Al atender al número de hembras que dejaron descendencia sí encontramos diferencias. Los experimentos con 4 machos por

cada hembra registran una fertilidad significativamente más baja que el resto, (**tabla 5.5**) dejando descendencia sólo dos de las 10 hembras empleadas. Aunque no encontramos más diferencias que sean significativas, es curioso observar que la máxima fecundidad (alrededor del 90% de las hembras que se utilizaron) se da en los tubos de densidad 1♀:2♂, mientras que para las otras dos densidades (1♀:1♂ y 1♀:3♂) ronda el 70%. Para ninguna de las tandas, según la densidad, encontramos diferencias en la mortalidad de las hembras o en la proporción de hembras fecundas (**tabla 5.5**).

3.5.3- Efecto de la posibilidad de elegir sobre la talla de la descendencia

A la hora de considerar posibles diferencias en la talla de la descendencia según las hembras tuvieron o no la oportunidad de escoger pareja, analizamos por separado los resultados obtenidos en la primera y segunda tanda de los obtenidos en la tercera. La diferencia sustancial es que en esta tercera tanda tratamos de aumentar el parecido de talla entre el macho y la hembra. Las relaciones macho/hembra son las que se observan en la **tabla 5.6**. Como se ve, la relación media macho/hembra es algo mayor para la tercera tanda que para las otras dos. Es curioso observar que la relación macho/hembra en la descendencia es muy similar en todos los experimentos, lo que podría indicarnos cuál es la relación “normal” entre la talla de los machos y las hembras hermanos y crecidos en un medio controlado. Esta relación, entre el 0,87 y el 0,9, no es muy diferente a la que hay entre los progenitores de las dos primeras tandas. En la tercera esta relación es mayor pues, como ya hemos dicho, tratamos de seleccionar machos y hembras de tallas parecidas.

En la **figura 5.1** se aprecian a simple vista las diferencias que hay en la talla de la descendencia, tanto para los machos como para las hembras, en función de si la hembra tenía un único macho con el que aparearse o si podía elegir. Podemos decir que la descendencia para las densidades 1♀:2♂ y 1♀:3♂ es claramente mayor que cuando a las hembras se les presentó un único macho. Sin embargo la densidad 1♀:4♂ produce descendencia menor que cuando ellas no pueden elegir. Esto, unido a la reducida fertilidad de las hembras expuestas a esta densidad de machos, nos demuestra que la presencia excesiva de machos puede resultar perjudicial tanto para las hembras como para su descendencia.

Las diferencias en la talla de la descendencia entre densidades son significativas tanto para el conjunto de los datos como dentro de cada una de las tandas (**tabla 5.7**) cuando analizamos tanto machos como hembras. Puesto que para la densidad 1♀:4♂ sólo hubo descendencia en dos tubos,

realizamos un análisis adicional en el que no se tomaron en consideración estos datos, es decir, comparamos las densidades $1\text{♀}:1\text{♂}$, $1\text{♀}:2\text{♂}$ y $1\text{♀}:3\text{♂}$. Las diferencias también fueron significativas.

Hay un segundo matiz que merece la pena considerar. Dado que el día en que se recogió la descendencia no había en todos los tubos 5 machos y 5 hembras, algunos tubos aportan más individuos a estas comparaciones. Para que todos los tubos de descendencia estuvieran igualmente representados realizamos un análisis adicional en el que lo que se comparaba era el tamaño medio de la descendencia de cada tubo, machos y hembras por separado. Los resultados son los mismos, siendo la descendencia de los tubos donde las hembras se encontraron con un único macho de menor tamaño.

Tal como se observa en la **tabla 5.1** además de ser claramente distintas las tallas de los descendientes de los tubos con un único macho también hay diferencias entre las densidades $1\text{♀}:2\text{♂}$ y $1\text{♀}:3\text{♂}$. Si analizamos las tallas de las descendencias emparejándolas dos a dos (**tabla 5.8**) encontramos que difieren entre sí las tres posibles parejas que podemos formar. Es decir, la densidad $1\text{♀}:1\text{♂}$ es diferente de $1\text{♀}:2\text{♂}$ y también de $1\text{♀}:3\text{♂}$, pero $1\text{♀}:2\text{♂}$ también es distinto de $1\text{♀}:3\text{♂}$. El análisis dentro de las tandas nos ofrece un dato interesante: las densidades $1\text{♀}:2\text{♂}$ y $1\text{♀}:3\text{♂}$ son diferentes entre sí en la primera tanda, pero no en la segunda. Esto probablemente es debido a que en la primera tanda la densidad $1\text{♀}:2\text{♂}$ se consiguió introduciendo en un tubo 10 hembras y 20 machos, mientras que en la segunda se introdujeron 15 hembras y 30 machos. De este modo podemos contrastar si el efecto que encontramos se debe a un cambio en el número de machos por cada hembra o es más bien debido al cambio en el número total de machos.

Tal como se pone de manifiesto en la **figura 5.1** los descendientes de los tubos que contenían 10♀ y 20♂ son mayores que los del que contuvo $15\text{♀}:30\text{♂}$ (aunque en ambos casos la densidad es de dos machos por cada hembra). Éste, por el contrario, presenta descendencia de talla semejante a la de los tubos que contenían 10♀ y 30♂ . Es por tanto plausible pensar que el efecto sobre la talla de la descendencia se debe más al aumento del número de machos que al del número de machos por hembra. Esta observación se corrobora estadísticamente (**tabla 5.9**), puesto que el tamaño de la descendencia no es significativamente diferente entre el tubo que contenía 15♀ y 30♂ y el que contenía 10♀ y 30♂ . Sin embargo es significativamente diferente la descendencia de los tubos que contenían 15♀ y 30♂ frente a aquellos en los que introdujimos 10♀ y 20♂ (aún siendo ambos densidad $1\text{♀}:2\text{♂}$).

Finalmente analizaremos la tercera tanda en la que incluimos 30 tubos $1\text{♀}:1\text{♂}$ y un tubo con 15♀ y 45♂ (densidad $1\text{♀}:3\text{♂}$). Hay que recordar que la particularidad de esta tanda consistía en que, en primer lugar, tratamos de que los machos y hembras fueran lo más semejantes posibles y, en segundo lugar, en que tratamos de seleccionar machos especialmente pequeños para utilizarlos en el

tubo en el que las hembras podían elegir. La media de talla de los machos utilizados en los experimentos de baja y alta densidad era de $1,343 \pm 0,061 \text{ mm}$ y $1,304 \pm 0,060 \text{ mm}$ respectivamente. Las tallas de los padres eran significativamente diferentes entre ambas densidades, mientras que no era así para las hembras (**tabla 5.3**). La descendencia siguió la misma tendencia que hemos observado hasta ahora, siendo significativamente mayores (**tabla 5.10**) los descendientes de las moscas que se cruzaron en el tubo en que había 3 machos por cada hembra.

¿ELIGE LA HEMBRA EL MACHO CON EL QUE SE APAREA?

¿Cómo puede distinguirse en una situación en que una hembra se encuentra con dos machos y copula con uno de ellos si ha habido elección por su parte? Desde luego no creemos que sea posible afirmar con certeza, mediante esta aproximación, que se ha producido elección. Sin embargo, encontrar que el macho que copula en una competición no se corresponde con el que parecía ser más competente en un experimento sin competición sí apunta en esta dirección. Al menos en el sentido de que la hembra interviene en el proceso y no se limita a copular con el macho más eficiente de los que encuentra. Realizamos una serie de experimentos a lo largo de un año con el fin de contrastar si la habilidad para copular de machos (y hembras) en una situación en la que no hay posibilidad de elegir (experimentos sin competición) es lo que determina, o no, el resultado final en una situación en que es posible la elección.

Todos los experimentos que consideramos en esta parte de los resultados los realizamos siguiendo el mismo protocolo experimental que seguimos cuando tratamos de estimar la importancia de la talla en experimentos realizados en la cámara de cortejo. También consideramos las mismas dos situaciones, las que denominamos “con competición” y “sin competición”. Recordemos que la diferencia estriba en si introducíamos la hembra en una cámara de cortejo en la que había un único macho (experimento sin competición) o en la que había dos machos (con competición).

En los experimentos con competición hacemos una distinción, que es muy importante a la hora trabajar con los resultados, entre aquellos experimentos en que ambos machos eran iguales (en lo referente a las variables con las que trabajamos, es decir, genotipo, edad y ausencia, o no, de alas) o eran diferentes. Esta diferencia estriba, por ejemplo, en que sólo en los experimentos en que compiten dos machos diferentes podríamos tener la certeza de que la hembra elige.

Tal como se puede observar en el calendario (**calendario B**) entre junio del 2003 y abril del 2005 realizamos 2654 experimentos sin competición y 1064 en que dos machos competían. La mayor parte de los experimentos fueron realizados de continuo –es decir, semana tras semana- entre junio del 2003 y septiembre del 2004. Una pequeña parte de los experimentos los llevamos a cabo posteriormente, en abril del 2005. Este segundo bloque de experimentos tuvo por objeto medir la longitud del ala de algunos de los tipos de moscas que intervienen en experimentos sin competición, puesto que, hasta ese momento, sólo habíamos tomado esta medida cuando tanto el macho como la hembra eran wt.

Los experimentos que utilizamos en la primera parte de estos resultados fueron realizados entre mayo y septiembre de 2004. Estos experimentos también los hemos empleado en esta segunda parte (sin tener en cuenta las tallas).

En este periodo de casi dos años en que realizamos los experimentos es importante recalcar que homogenizamos el fondo genético de las líneas en tres momentos: al comenzar los experimentos (durante la primavera del 2003), antes de realizar los experimentos que utilizamos para analizar el efecto del tamaño sobre el éxito reproductivo (primavera del 2004) y antes de la última tanda de experimentos de abril del 2005.

4.1- Análisis de las variables

Hasta ahora hemos evaluado la eficiencia copuladora de las moscas en función principalmente de su talla. Seguir empleando esta variable plantea varios problemas. El primero, de orden metodológico, es el arduo trabajo y el aumento del periodo de experimentación que hubiera significado el haber tenido que cortar y medir las alas de los 4792 machos y de las 3718 hembras que empleamos. Un segundo problema es que, en función de nuestros resultados preliminares, parecía que la diferencia en habilidad para fomentar la cópula de machos de tallas no muy distintas iba a ser muy pequeña. Para estos experimentos preferimos utilizar animales en que las variaciones en su habilidad para lograr copular fueran más patentes.

Grandes cambios en la capacidad de copular los encontramos en la bibliografía cuando se emplean moscas con algún gen marcador. No queremos decir que cualquier mutación puntual afecte al éxito reproductivo del animal, pero consideramos bastante probable que los efectos pleiotrópicos que normalmente se asocian a cualquier mutación visible son suficientes para, ya sea por leves disfunciones en los sistemas involucrados en el cortejo y apareamiento o simplemente por un estado físico algo desmejorado, afectar a la capacidad de los animales para aparearse. Por motivos que ya hemos expuesto (por su fácil identificación a la lupa y al microscopio, por no presentar defectos comportamentales obvios y por no haberse descrito su expresión en el sistema nervioso, en órganos sensoriales ni en los músculos) decidimos utilizar la mutación *cv2* con este fin.

Para reducir más drásticamente la capacidad de copular empleamos un procedimiento también descrito en la bibliografía: impedimos a algunos machos ejecutar la canción nupcial al cortar sus alas.

Tenemos ya, por tanto, tres variables (genotipo del macho, genotipo de la hembra y presencia/ausencia de alas en el macho) que determinaran, muy probablemente, la eficacia reproductiva de las moscas. Además de estas variables, por motivos logísticos considere una variable adicional: la edad de las moscas. Como ya hemos visto, la edad puede afectar a la

capacidad reproductiva de las moscas y por tanto tenerla en cuenta es importante. Y, como decíamos, por cuestiones de organización del trabajo no nos era posible trabajar siempre con moscas vírgenes de la misma edad. La edad de las moscas la consideramos en tres bloques (3-4, 5-6 y 7-8 días). Por último, tuvimos en cuenta dos variables que no se refieren a las moscas empleadas sino a las circunstancias en que realizamos los experimentos: la hora del día y el mes en que llevamos a cabo los experimentos.

Las que hemos mencionado hasta ahora son lo que podríamos denominar variables independientes, es decir, variables que determinan la capacidad de copular de los animales. Pero, ¿Qué variables dan cuenta de esta capacidad? Es decir, de que modo estimo la capacidad de copular de una pareja de moscas que presentan determinados valores para cada una de estas variables. Las variables dependientes son las ya conocidas MF y CL y, tal como dicta la bibliografía y el sentido común, ambas son un reflejo de la capacidad para copular del animal.

Una última apreciación de bastante relevancia. Puesto que ninguna de las variables que empleo es continua, los experimentos pueden organizarse en clases. Una clase no es más que el conjunto de experimentos que presentan todos ellos el mismo valor en todas y cada una de las variables independientes. Sería una clase, por ejemplo, aquella que contiene a todos los experimentos realizados con una hembra wt y un macho cv sin alas de 3-4 días de edad el mes de Julio a la hora ZT6. Para cada una de estas clases se puede calcular su frecuencia de cópula y un CL medio (teniendo en cuenta que sólo cuando se da la cópula tiene sentido hablar de el CL).

Cada una de estas clases se puede considerar, a su vez, perteneciente a un tipo de experimento. Por tipos de experimento entendemos al grupo al que pertenecen todos los experimentos que coinciden en el número de moscas que participan, en el genotipo de estas y en si el o los machos presentan o no alas. Por ejemplo, la clase que hemos considerado anteriormente pertenecería al tipo de experimento denominada “sin competición, macho cv sin alas, hembra wt”.

Todos los datos obtenidos en esta segunda parte están encaminados a estimar la habilidad/propensión a copular de las moscas cuando no hay competición y comparar si estos valores determinan los resultados cuando compiten dos machos. Sin embargo estos resultados también se pueden emplear para realizar comparaciones dos a dos entre experimentos en que varíe una única condición. Mediante esta aproximación podemos entender el efecto que tiene sobre la MF y el CL cambios en una única variable. Nos pareció interesante explorar esta oportunidad y, por

tanto, en primer lugar presentamos estas comparaciones para, a continuación, explicar como estimamos la habilidad/propensión a copular y el resultado de compararla con los resultados en experimentos con dos machos.

4.2- Comparando los diferentes experimentos

En principio las comparaciones han de realizarse entre experimentos en que se modifica una única variable. Sin embargo los tipos de experimentos que comparamos no fueron realizados en la misma hora ni fecha, ni con moscas de la misma edad. Aún así, con las precauciones adecuadas, las conclusiones que se extraen de estas comparaciones nos parecen suficientemente interesantes.

El por qué de esta falta de compensación en el diseño lo podemos achacar a dos factores. En primer lugar lo inesperado que resultó que el mes en que se realizan los experimentos afecte significativamente a la MF y al CL. En segundo lugar a que, debido al gran número de comparaciones en la que puede intervenir un mismo tipo de experimentos, no siempre nos fue posible realizar simultáneamente, en un número razonable de repeticiones, todos los otros posibles experimentos con los que era interesante compararlo.

4.2.1- Experimentos sin competición

En principio con los experimentos sin competición quisimos evaluar la capacidad que tienen machos y hembras para lograr copular. Como ya hemos dicho, esta capacidad la presuponemos proporcional a la MF y, entre los experimentos en que se da la cópula, al CL. En principio a mayor MF y a menor CL más hábil es la mosca, en unas condiciones dadas, para lograr copular. Es muy importante darse cuenta de que los valores de MF y CL obtenidos en estos experimentos pueden referirse tanto al macho como a la hembra. Es decir, el valor obtenido en cada par refleja, a la vez, la habilidad del macho para copular y la propensión de la hembra a hacerlo (siempre en las circunstancias concretas para ese experimento).

La capacidad de copular depende, como vamos a ver, de las características del macho (es decir, su genotipo y el tener o no tener alas), del genotipo de la hembra, de la edad de ambos y, además, de las características propias de cada experimento: la hora del día y del mes del año.

En la **figura 6.1** podemos observar el valor que toman la MF y el CL según varía el genotipo del macho, el de la hembra y la presencia/ausencia de las alas del macho. Además en las **tablas 6.1** y **6.2** están recogidos, respectivamente, la MF y la media y desviación típica del CL para las clases

de experimentos que consideran el genotipo del macho, de la hembra, la presencia de alas en el macho y la edad de las moscas.

En primer lugar prestemos atención al efecto que tiene la eliminación de las alas tanto para el CL como para la MF. En todos los casos, cuando se comparan experimentos que sólo difieren en esta característica, perder las alas causa un aumento considerable del CL en tanto que la MF disminuye. Es decir, tal y como describe la bibliografía, la carencia de alas dificulta que se dé la cópula en todos los casos (**figura 6.1**). La significación de estas diferencias la hemos comprobado cuando se trataban de experimentos en que utilizamos un macho y una hembra wt (**tabla 6.3**).

El genotipo de la hembra también tiene un efecto significativo. Frente a un macho wt las hembras cv presentan frecuencias de cópula significativamente menores que las hembra wt. Sin embargo, no disminuye significativamente el CL (**tabla 6.3**). Cuando el macho es cv no difieren ni la MF ni el CL (**tabla 6.3**) con el cambio de hembra wt por hembra cv. Podemos afirmar, entonces, que cuando empleamos machos alados el cambio de una hembra wt por una cv no tiene demasiado efecto (solamente sobre la frecuencia ante machos wt). Es decir, en estos casos, el que se copule más frecuente o rápidamente no depende sustancialmente de la propensión de las hembras a copular, puesto que el cambio de una hembra por otra (que, en principio, tienen diferente propensión) no tiene apenas efecto

Por el contrario el utilizar machos de uno u otro genotipo tiene un efecto considerable sobre ambos valores. Que el macho sea cv dificulta que se dé la cópula, es decir, un cambio de un macho wt por uno cv provoca la disminución de la MF y un aumento del CL (**figura 6.1**). En experimentos sin competición en que los machos tienen alas se puede afirmar que la habilidad del macho es lo que determina el número de cópulas, dado que el cambio de un macho por otro, con diferente habilidad para copular, causa variaciones en la frecuencia de apareamientos y en el tiempo hasta la cópula.

Estos cambios significativos cuando se varía el genotipo del macho pero no cuando varía el de la hembra se aprecian muy bien en la tercera de las tablas recogidas en la **tabla 6.3**.

Esta situación es, digamos, justo la inversa cuando utilizamos machos sin alas. Tal como se observa en la **figura 6.1** en estos casos es el cambio del genotipo de la hembra lo que tiene efecto y no así el cambio del macho. En la primera gráfica apreciamos que el cambio de una hembra wt por otra cv causa una disminución de la MF independientemente del genotipo del macho sin alas. Podemos afirmar, entonces, que cuando el macho tiene muy mermada habilidad para copular por

carecer de alas, es la propensión a copular de la hembra lo que determina que se copule en mayor o menor medida. sólo cuando el estímulo que se le presenta a la hembra es semejante tiene importancia su propensión a copular.

En la segunda gráfica de la misma figura apreciamos que apenas hay cambios en el CL entre unos y otros experimentos. Esta apreciación la respalda el análisis estadístico que muestra que no hay diferencias en el CL entre los cuatro grupos (segunda tabla de la **tabla 6.3**). Puesto que el cambio de la hembra afecta a la MF, pero no al CL quizá pueda aventurarse la hipótesis de que este factor se ve afectado sustancialmente por la habilidad para cantar de los machos. Cuando se carece, por motivos obvios, de dicha habilidad el CL presenta valores relativamente estables en torno a los 450 segundos.

En cuanto a como afecta a la capacidad de copular la edad (**tabla 6.1**), los efectos difieren según las características de los participantes. Si nos fijamos en el experimento en que utilizamos un macho y una hembra wt se aprecia una oscilación no significativa en la MF ($\chi^2=1,004$; gl=2; $p=0,605$) que, en general, indica una disminución de este valor según las moscas envejecen. Respecto al CL, el tiempo invertido hasta lograr copular aumenta con la edad de las moscas, aunque las diferencias tampoco son significativas (Prueba de Kruskal-Wallis: $\chi^2=1,462$; gl=2; $p=0,481$).

Respecto al efecto de los meses sobre MF y CL, lo primero que queremos hacer notar es que, al igual que la edad, afectan de modo muy diferente según las características propias de las moscas. Por ejemplo, no afecta igual el paso de los meses a los experimentos en que intervienen un macho wt y una hembra cv que aquellos en que el macho y la hembra son cv. En la **figura 6.2** presentamos, a modo de ejemplo, el efecto del paso de los meses sobre los experimentos de machos wt ante hembras wt y cv. Hemos elegido estas dos clases por ser para las que realizamos experimentos en todos los meses y, sobre todo, por presentar un número razonable de experimentos en casi todos ellos.

En la figura se observa una depresión veraniega de la actividad sexual. En este periodo (de mayo a septiembre) disminuye la frecuencia de cópula y aumenta el tiempo que se invierte en copular. Este efecto es más marcado cuando el macho, en el ejemplo que nos ocupa, es el cv. En cualquier caso este efecto es significativo sobre MF y CL en ambos tipos (**tabla 6.4**).

Para nosotros fue una sorpresa descubrir el efecto del mes sobre la MF y el CL, puesto que los experimentos fueron realizados siempre en idénticas condiciones, a la misma temperatura y humedad, en el mismo laboratorio, bajo la misma iluminación, a una hora del día controlada y las moscas, que eran conservadas en un incubador, no estaban sujetas al cambios en el fotoperiodo que

se produce con el paso de los meses. Sin embargo el efecto del mes existe y no es una mera consecuencia de las fluctuaciones de las condiciones de cultivo. Podemos afirmar ésto porque el efecto del mes se mantiene de un año al siguiente, lo que hace pensar que no es fruto de las circunstancias del cultivo o de variables no controladas durante la realización del experimento, a no ser que estas variables oscilen cíclicamente dentro del año.

El efecto de la hora del día ya lo abordamos en la primera parte de los resultados, cuando estábamos interesados en evaluar el efecto del tamaño de las moscas sobre su éxito reproductivo. Una diferencia notable respecto a entonces es que ahora consideramos experimentos realizados en la primera parte del día. Para mostrar el efecto de las horas utilizamos los experimentos en que intervienen un macho y una hembra wt. En la **figura 6.3** se muestra el efecto del paso de las horas sobre el CL y la MF. Aparecen representadas dos series de barras, la primera incluye la totalidad de los experimentos de este tipo y la segunda sólo los valores observados en los experimentos empleados en la primera parte. De nuevo es importante considerar que el efecto que tiene el paso de las horas sobre la habilidad de copular depende de las características de las moscas.

Queremos insistir en que al comparar tipos de experimentos lo que vamos a comparar son medias de valores de MF y CL de grupos de experimentos con valores comunes para algunas variables (genotipo, presencia o no de alas). Pero en estos grupos de experimentos no están igualmente representados todos los valores que pueden tomar las demás variables (edad, hora, mes). Del mismo modo todas las conclusiones que venimos presentando se referían a medias para un conjunto de experimentos. Pero en este conjunto de experimentos no todos los valores que pueden tomar las diferentes variables están representados equitativamente. Con lo que las medias obtenidas para cada tipo de experimento pueden estar sesgadas si un factor ha tenido más presencia que otro en alguno de los tipos que se comparan.

Esto no desacredita los resultados que hemos obtenido y que vamos a obtener a lo largo de los próximos apartados. Simplemente hemos de tener en cuenta este matiz. Es más preciso analizar las modificaciones en la frecuencia de cópula controlando todas las variables relevantes pero eso, en nuestro caso, sólo es posible considerando los efectos de las variables en el modelo. Y eso está, a su vez, restringido por la bondad del ajuste del modelo.

En definitiva, que las conclusiones que podamos extraer en este epígrafe habrá que compararlas y matizarlas con los resultados obtenidos más adelante a través de la regresión logística.

4.2.1.1 ¿Por qué desestimamos utilizar la talla?

Nuestra experiencia con los experimentos previos al comienzo de esta tesis nos indujeron a pensar que, frente a variables como el genotipo de los animales participantes o la carencia de alas, las variaciones del tamaño apenas tenían efecto sobre la capacidad de copular. Estas impresiones estaban basadas en apreciaciones *de visu* del tamaño de las moscas. Observamos, por ejemplo, que machos aparentemente más grandes pero de la línea cv tenían más dificultades para copular que machos wt de mucho menor tamaño.

Nos pareció oportuno contrastar si estas apreciaciones, más o menos subjetivas, se podían refutar con experimentos en los que, efectivamente, midiésemos las alas de las moscas participantes. Para ello realizamos, casi nueve meses después de haber considerado concluida la fase experimental, una serie de experimentos en los que medimos el tamaño de las alas de las moscas participantes. El fin de estas medidas es mostrar que, aunque la talla tiene una considerable importancia a la hora de copular cuando se emplean moscas wt, el tamaño pasa a un segundo plano cuando las moscas presentan mermada su capacidad para fomentar la cópula.

Los experimentos que empleamos para analizar la importancia de la talla cuando hay más variables que ésta implicadas fueron todos ellos realizados en abril del 2005, siempre por la tarde y con moscas entre 3 y 5 días.

Los valores medios de la longitud de las alas aparecen reflejados en la **tabla 6.5**. Así mismo presentamos los estadísticos empleados para comparar las tallas de las moscas wt y cv (tanto para machos como para hembras). Las hembras de las líneas wt y cv no difieren en cuanto a su tamaño, mientras que los machos cv son significativamente mayores que los wt. En esta misma tabla también se incluyen estadísticos que nos muestran que no son diferentes en cuanto a tamaño las moscas, siempre comparando dentro del mismo genotipo y sexo, utilizadas en los diferentes experimentos. Utilizamos machos y hembras wt en tres experimentos, mientras que las moscas cv se emplean sólo en dos de ellos. Que sean dos o tres es lo que causa que utilizásemos dos test diferentes para controlar la homogeneidad de tallas entre experimentos: el de Mann-Whitney cuando son dos y el de Kruskal-Wallis cuando tres. Son test no paramétricos porque, tampoco en este caso, ni la talla ni sus transformaciones habituales se distribuyen en una curva normal.

Para contrastar el efecto de la talla junto con el cambio en una única variable sobre la MF (por ejemplo, el cambio de un macho wt por uno cv cuando la hembra es wt) incluimos en el análisis solamente los experimentos en que varía esa variable. Realizamos tres regresiones logísticas tomando grupos de experimentos según cual fuera la variable que queríamos considerar además de la talla.

El modelo que empleamos en estas regresiones logísticas es el mismo que resultó ser explicativo en la primera parte (**tabla 1.6**). Es decir, como variables tomamos la talla del macho, de la hembra y la interacción entre ambas y le incorporamos la variable dicotómica en estudio (por ejemplo, el genotipo del macho). Queremos hacer notar que todas las nuevas variables son siempre dicotómicas (macho wt/macho cv, etc).

Los resultados de esta serie de regresiones logísticas aparecen reflejados en la **tabla 6.6**. En todos los casos la regresión fue significativa, es decir, ubicaba los experimentos en las categorías “copuló” y “no copuló” mejor que el modelo nulo. Por otro lado, atendiendo la significación de las variables dentro de cada modelo, se observa que en ninguno de ellos resultó ser significativa la talla de las moscas o su interacción. En cambio fueron significativas (excepto en el caso del genotipo de la hembra) las tres variables dicotómicas (esto es, ausencia o presencia de alas, genotipo del macho y genotipo de la pareja).

Como conclusión nos atrevemos a afirmar que, tal como nos dictaron los experimentos preliminares, la talla de las mosca pierde relevancia cuando se toman en consideración variables como el genotipo de las moscas o la carencia de alas. Es por ello que en esta parte del trabajo no hemos empleado la talla como variable a tener en cuenta

4.2.2- Experimentos con competición entre machos iguales

Como ya hemos dicho, estudiamos por separado los experimentos en que competían dos machos iguales (misma edad, genotipo y presencia de alas) y aquellos en que los machos que participaron eran diferentes. Un motivo para esta distinción es que, en el caso de los machos iguales, se puede evaluar el efecto de incrementar el número de machos presentes en el experimento sobre las variables dependientes sin la dificultad que estriba considerar que el segundo macho incorporado sea diferente

Puesto que son cuatro las combinaciones que se pueden formar con dos posibles genotipos para el macho y dos para la hembra, cuatro son los tipos de experimentos que realizamos en esta parte. No hicimos experimentos con parejas de machos sin alas porque, en los estudios previos, la mayoría de estos experimentos concluía sin que copulase ninguno de los dos machos.

Los valores hallados para la MF así como de la media y desviación típica del CL de los cuatro tipos de experimentos con machos iguales aparecen en las **tablas 7.1 y 7.2**. De un modo más asequible, aunque obviando la información desglosada según la edad de las moscas, los presentamos en la **figura 7.1**. En esta figura aparecen los valores de MF y el CL medio para los

cuatro tipos de experimentos junto con los resultados de los experimentos sin competición en que intervenían individuos con las mismas características. Esto nos permite comparar visualmente el resultado de aumentar el número de machos.

Si atendemos al calendario, siguiendo las precauciones que hemos sugerido, vemos que, en general, los cuatro tipos de experimentos se realizan en los mismos meses (es decir, la variable mes está bastante compensada en los cuatro tipos). Además si atendemos a si en esos meses se realizaron experimentos con los mismos tipos de moscas pero sin competición vemos que en todos los meses en que realizamos experimentos con competición también llevamos a cabo sus controles..

Con estos experimentos pudimos analizar los cambios que operan sobre el CL y la MF cuando a) se cambia la hembra por una de diferente genotipo, b) se cambia el macho por otro de distinto genotipo y c) se incrementa el número de machos. Esto último hay que hacerlo teniendo en cuenta los resultados de los experimentos sin competición. Y, desde luego, podemos ver si el efecto que esto provoca depende o no del genotipo de las moscas participantes.

En primer lugar queremos empezar analizando este último punto. Lo hacemos así porque la distinta respuesta que muestran las hembras cv al incremento del número de machos está presente en todas las comparaciones posteriores que se pueden realizar.

El efecto de aumentar de un macho a dos afectó significativamente a la frecuencia de cópula en tres de los cuatro tipos de experimentos (tercera parte de la **tabla 7.3**). El cambio es diferente según la hembra fuera wt o cv. Cuando la hembra es wt la MF aumenta al verse expuesta a dos machos, mientras que disminuye si la hembra es cv. Como ya hemos dicho, estas variaciones son significativas en tres de los cuatro experimentos, no siéndolo en el que las moscas participantes son todas ellas de la línea cv (**tabla 7.3**).

Respecto a los cambios que provoca sobre el CL el que haya competición, lo primero es decir que en ningún caso son significativos. Aún así podemos observar que la tendencia es a que disminuya –esto es, a facilitar la cópula- en todos los casos excepto cuando el (los) macho(s) es (son) wt y la hembra cv. Es decir, que el paso de un macho a dos cuando la hembra es cv no tiene el mismo efecto sobre el CL según el macho fuera wt o cv. Si se pasa de un macho wt a dos, aumenta el CL. Si lo que se pasa es a dos machos cv (la hembra sigue siendo cv), desciende el CL. Esto produce un efecto que conviene resaltar. Y es que en este caso el cambio en MF tiene el sentido contrario al cambio en el CL (disminuye la frecuencia, pero también el tiempo hasta la cópula).

Resumiendo, y teniendo en cuenta que algunos de los efectos comentados no son significativos, se puede decir que la introducción de un segundo macho facilita el que se dé la cópula si la hembra es wt, mientras que lo dificulta si la hembra es cv.

Prestemos ahora atención al efecto que produce el cambio de hembra. Lo primero es recordar que en los experimentos sin competición este cambio afecta significativamente a la MF si los machos eran wt, mientras que no tenía efecto si los machos eran cv. Y, respecto al CL, en ningún caso tenía efecto (**tabla 6.3**). Es por ello que afirmábamos que ante machos alados la propensión a copular de la hembra apenas afectaba.

Cuando los dos machos son wt, el cambio en el genotipo de la hembra de wt a cv produce una reducción de la MF y un aumento del CL (**figura 7.1**). La significación de estos cambios se recoge en la **tabla 7.3**. Como acabamos de recordar, cuando no hay competición el cambio de genotipo de la hembra produce un cambio significativo en la frecuencia, pero no en el tiempo. Esto sigue siendo así cuando hay competición, aunque el aumento en el CL es casi significativo. El cambio es en el mismo sentido, es decir, se dificulta que se produzca la cópula. Pero mientras que pasar de hembra wt a cv en experimentos sin competición reduce la cópula un 8% (del 81% con una hembra wt al 73% si la hembra era cv), cuando hacemos esto en experimentos con competición el descenso es del 29%. Esto es así por el diferente efecto que sobre las hembras wt y cv tiene el incremento del número de machos, fomentando la cópula de las primeras y disminuyendo la MF en las segundas. Eso hace que experimentos con estos machos que sin competición eran más parejos, al compararlos cuando hay competición las diferencias en MF son mayores.

Cuando los dos machos son cv el resultado de cambiar el genotipo de la hembra también implica disminución de la frecuencia. El cambio en la MF es, de nuevo, una reducción muy significativa (pasan de copular del 76 al 51%). Sin embargo el efecto sobre el CL no sólo no es significativo, sino que su valor medio es prácticamente el mismo (301s cuando la hembra es wt frente a 293 cuando es cv). Es importante recordar que, en los experimentos sin competición, el cambio en el genotipo de la hembra ante un macho cv no tenía consecuencias ni en la frecuencia (pasaban de copular el 61% con la hembra wt a hacerlo el 56% con la hembra cv) ni en el CL. Sin embargo, y tal como ocurrió en el caso anterior, la introducción de un segundo macho cuando la hembra es wt incrementa la frecuencia de cópula, mientras que si la hembra es cv la disminuye.

Todo esto causa que al comparar las frecuencias de cópula de cada tipo de hembra con dos machos estas difieren mucho, aunque cuando sólo había un macho eran prácticamente iguales. La MF aumenta al pasar de un macho a dos en el experimento con dos machos cv y hembra wt. Sin embargo ese incremento del número de machos causa una disminución en el experimento con dos machos cv y hembra cv. Estos dos experimentos (macho cv con hembra wt y macho cv con hembra cv) eran indistinguibles cuando no había competición. Pero dado que el aumentar el número de machos les ha afectado de modo opuesto al compararlos ahora se aprecian diferencias que antes no existían.

Veamos que ocurre, por último, si a lo que atendemos es, en experimentos con dos machos, al cambio del genotipo de éstos (ver la segunda tabla de la **tabla 7.3**). Recordemos que este cambio era significativo tanto para el CL como para la MF en los experimentos con un sólo macho. Y, en general, se puede decir que el macho cv dificultaba la cópula (aumentaba, aunque no significativamente, el CL y disminuía la MF).

El cambio de los machos de wt a cv cuando éstos son dos tiene las mismas consecuencias sobre la MF (la disminuye) independientemente del genotipo de la hembra (aunque el cambio no es siempre significativo). Sin embargo respecto al CL la variación que se produce al reemplazar los machos wt por machos cv tiene distinto sentido según el genotipo de la hembra. Aparentemente si ésta era wt el CL aumenta (se dificulta la cópula), pero si era cv, disminuye (se facilita la cópula). Sin embargo ninguno de estos cambios sobre el CL fue significativo (segunda tabla de la **tabla 7.3**).

Volvamos al cambio en la MF. Para la hembra wt, cuando no había competición, el cambiar el macho wt por uno cv hacia disminuir la MF un 19%. Como el añadir un macho cuando ella es wt aumenta la MF esta diferencia en experimentos con competición mantiene el sentido (disminuye la frecuencia de cópula en un 13%). Para la hembra cv el cambio del genotipo del macho cuando no había competición también disminuía la frecuencia de cópula (del 73 al 57%, es decir, se copula un 16% menos si el macho es cv). Para la hembra cv la presencia de dos machos causa un descenso en su frecuencia de cópula. Esto hace que al comparar el efecto del genotipo de los machos aún se de un descenso en la frecuencia de cópula (del 60 al 52%), aunque el cambio ya no es significativo.

En resumen, la conclusión que podemos extraer de estos experimentos es que, primero, la presencia de dos machos fomenta que la hembra wt copule y tiene el efecto contrario sobre la hembra cv. Segundo, que el cambio de hembra si tiene consecuencia en los experimentos con competición. Es decir, que la receptividad de la hembra es, cuando hay competencia, importante para definir el número de cópulas que se producen. Y, tercero y último, que la habilidad de los machos no es tan crucial, puesto que el cambio de genotipo no siempre afecta. De hecho los cambios parecen ser importantes ante hembras receptivas (de la línea wt), pero son menos importantes ante hembras menos receptivas (de la línea cv).

Los resultados vistos hasta ahora (experimentos sin competición y con competición entre iguales) se podrían interpretar del modo siguiente: la propensión a copular de las hembras wt es mayor que la habilidad para lograr copular de un único macho wt. Si son dos los machos wt la frecuencia de cópula de esta hembra aumenta, aprovechando el incremento de estímulo que se

produce al utilizar dos machos. Del mismo modo actúa ante un macho cv, aumentando su frecuencia de cópula al duplicar el número de machos. La hembra cv es, cuando no hay competición, casi igual de receptiva ante ambos machos. Sin embargo al aumentar el número de machos esta disminuye su receptividad, de modo que ya no determina el número de cópulas la habilidad conjunta de los machos, sino la baja receptividad de la hembra (que se sitúa en torno al 55%).

Esta explicación se ajusta, en cierta medida, a la solución que se sugería en el artículo de Casares y colaboradores (1998). Disponemos de la información de dos hembras diferentes (en nuestro caso una de ellas marcada con una mutación visible) enfrentadas a una misma pareja de machos, es decir, tenemos experimentos en que dos machos compiten por una hembra variando una única característica de la hembra y siendo conocidos, además, el comportamiento de estas hembras al enfrentarse a un único macho de las mismas características.

Es interesante darse cuenta, además, que con estos resultados podríamos interpretar que la propensión de la hembra tiene importancia cuando el estímulo que ofrecen el o los machos es parecido. Es decir, ante machos sin alas o ante dos machos, en que el estímulo debido a la canción nupcial debe ser muy parecido, cobra importancia la propensión a copular de la hembra.

4.2.3- Experimentos con competición entre machos diferentes

Estos experimentos tienen la ventaja para nuestros objetivos de que, en cierto sentido, la hembra tiene que optar entre dos machos que a nuestros ojos son claramente diferentes. En función de sus resultados en experimentos sin competición, en cada pareja de machos podemos identificar a uno de ellos como más eficaz a la hora de lograr copular que el otro. Consideramos como macho más competente al que de los dos presenta MF más elevada y CL más bajos cuando no compete. Si la hembra copula con un macho solamente en función de su atractivo cabe esperar que el macho más competente copule más veces que su adversario en las competiciones.

Tal como comentamos en algún momento, los resultados de CL y MF obtenidos en los experimentos en que no había competición se pueden achacar a la habilidad del macho o a la propensión a copular de la hembra. En los experimentos en que compiten dos machos iguales no ocurre exactamente lo mismo, pero hasta ahora no le habíamos tenido que dar importancia. En este caso el CL, como ambos machos son iguales, aún puede adjudicarse a ambos. Pero con la MF no ocurre esto, puesto que el porcentaje de hembras que copula en cada tipo de experimento es siempre

mayor que el porcentaje de machos que lo hace dado que hay el doble de machos. Por tanto la frecuencia de cópula de los machos no tiene el mismo valor que la frecuencia de cópula de las hembras. Hasta ahora este detalle no ha tenido demasiada importancia, porque los machos que competían eran iguales y a ambos les afectaba del mismo modo el aumento o descenso de la MF de la hembra. Sin embargo, a partir de aquí será importante fijarse en cuando nos referimos al MF de machos y hembras. Lo mismo ocurre en competiciones entre machos diferentes con el CL; también es distinto según lo refiramos a machos o a hembras (el CL de la hembra será un valor intermedio, aunque no necesariamente la media, entre los CL de los machos que compiten ante ella).

Los términos a comparar serán, entonces, algo diferentes. CL y MF son idénticos para machos y hembras en los experimentos sin competición. En los experimentos con competición el CL presenta el mismo valor para machos y hembras, pero la MF de los machos es la mitad de la de las hembras. Y cuando compiten dos machos diferentes, el CL de las hembras será un valor intermedio entre el de los machos. Y la MF de las hembras será la suma de las frecuencias de cópula de los machos.

En primer lugar, y como hemos venido haciendo hasta ahora, presentamos CL y MF de los cuatro tipos de experimentos en las **tablas 8.1 y 8.2**. De nuevo, también, presentamos los datos para compararlos gráficamente en la **figura 8.1**. Esta figura es algo diferente a las anteriores. En la primera gráfica de la figura presentamos la MF en cada tipo de experimento (en rojo el % de experimentos en que se copula, es decir, la MF de la hembra). Al lado de esta barra hay una segunda, en tonos verdes, donde se desglosa que parte de esa MF se corresponde con casos en que copuló un tipo de macho o el otro. Esto hasta ahora no había sido necesario, puesto que sólo había un tipo de macho. En esta gráfica no presentamos los experimentos sin competición con los que comparar, pero aparecen más adelante.

La segunda gráfica de la figura nos muestra los valores medios del CL. Para cada experimento aparecen tres valores: el valor del CL en ese tipo de experimento (CL de la hembra) y dos CL para cada tipo de macho (el tiempo que invirtió en copular cada tipo de macho) Es decir, el primer valor corresponde al tiempo hasta la cópula de las hembras que han participado en el experimento, todas iguales entre sí, independientemente del macho con el que se aparearon. Y los otros dos refieren el CL invertido por cada macho participante en copular dicha hembra. Estos últimos datos los presentamos de nuevo en la **figura 8.2** pero ahora comparándolos con el CL que presentan estos mismos machos con la hembra correspondiente cuando no hay competición.

Al comparar la MF de unos machos con otros según estén compitiendo o siempre observamos una considerable reducción de su MF que, lógicamente, se ve muy afectado por el hecho de que se presente un segundo macho. También podemos comparar la MF de los machos según compitan ante un macho igual o si el adversario es diferente. Recordemos que como MF de uno de los machos en que compiten dos machos iguales empleamos la mitad de la MF observada en ese tipo de experimento.

Las comparaciones más informativas, similares a las que hemos llevado hasta ahora, son las que atañen a la frecuencia de cópula de las hembras. En el anterior punto comparábamos el cambio en MF cuando la hembra pasa de enfrentarse a un macho a enfrentarse a dos (en el caso anterior no teníamos la MF de cada tipo de macho, pues ambos eran del mismo tipo, y sólo aparecía reflejada la MF de la hembra). Solo que ahora, puesto que los machos son diferentes, tendremos dos casos sin competición con los que comparar a cada hembra.

Quizá con un ejemplo lo antes expuesto resulte más claro. En el caso de un macho wt con alas y otro sin ellas frente a una hembra wt tenemos que la hembra copula en el 77,71% de los experimentos. De éstos unas veces lo hace con el macho alado (y para el macho alado la MF es de 39,43%) y otras veces con el que carece de alas (siendo su MF del 38,29%). La MF de la hembra tendremos que compararla con la de dos casos sin competición: los que incluyen una hembra wt frente a un macho wt alado (80,78%) y, además, con aquellos en que el macho wt no tiene alas (52,81%). También podemos compararla con aquellos casos de competición entre dos machos iguales en que intervengan los mismos actores; en este caso sería solamente con el caso de dos machos wt ante hembra wt (88,73%), puesto que no realizamos experimentos con dos machos sin alas.

De entre los cuatro experimentos de competición entre machos diferentes uno de ellos da más juego a la hora de realizar diferentes análisis. Nos referimos al experimento en que un macho wt y uno cv compiten por copular con una hembra wt. La ventaja es que, dado que realizamos experimentos en que competían dos machos alados del mismo genotipo (los analizados en el anterior punto), podemos ver las consecuencias de que la hembra se encuentre con dos machos diferentes con respecto lo que ocurre cuando éstos son iguales. No realizamos experimentos que nos permitan hacer lo mismo (esto es, en los que se emparejó a cada competidor con otro macho de sus mismas características) en los otros tres tipos de experimentos, porque en ellos interviene siempre un macho sin alas. Como ya hemos comentado, no realizamos experimentos con dos machos sin alas porque en las ocasiones en que emparejamos dos machos sin alas el experimento concluía normalmente sin que ninguno hubiese copulado. Nos pareció que el tiempo (y el esfuerzo) que

hubiese consumido realizar estos experimentos no compensaba la información que de ellos se podía extraer.

4.2.3.1- ♂wt/♂cv x ♀cv

En la **figura 8.3** aparecen dos gráficos que nos permiten observar para este experimento (un macho wt, un macho cv y una hembra cv) tanto las MF (de cada macho y de la hembra) como los CL (también para los machos y las hembras).

En la primera de las dos gráficas podemos distinguir dos partes. En el centro aparece la MF que se refiere a la hembra y, a su lado, una barra en donde se indica que parte de esa MF se produce por copular con machos wt y que parte al hacerlo con machos cv. A la izquierda de estas dos barras presentamos, junto a la MF de la hembra, las MF de los experimentos en que competían dos machos iguales con esta hembra. Esto es, las frecuencias de cópula de las competiciones de dos machos iguales, cv y wt, ante hembras cv. Esto nos permite comparar visualmente si el hecho de que la hembra compita con dos machos diferentes en vez de con dos machos iguales afecta a su MF. Y, tal como se observa, se copula más frecuentemente cuando los machos son diferentes. Esta diferencia es significativa cuando se compara con el resultado de emplear dos machos cv, y no cuando los dos machos son wt (**tabla 8.3**).

Un segundo modo de realizar comparaciones es con los experimentos en que participa la hembra en solitario con cada uno de los machos. Es interesante notar que, en este caso, la frecuencia de cópula de la hembra se reduce poco con respecto a cuando se le presenta un único macho wt. Sin embargo cuando comparamos el cambio de frecuencia de pasar de uno a dos machos wt el descenso de la MF fue muy significativo (**tabla 7.3**, incremento en el número de machos). El descenso que hasta ahora se venía produciendo al pasar de uno a dos machos cuando la hembra es cv también se produce aquí, aunque no es significativo. Partamos ahora de la situación opuesta y comparemos el efecto de añadir un macho wt a una pareja de moscas cv. En este caso la MF de la hembra se incrementa significativamente (pasa del 57 al 76%). Parece, pues, que la incorporación de un segundo macho más competente mejora la frecuencia de cópula de la hembra.

En el lado derecho de esta primera gráfica aparecen las MF para cada macho de esta competición, en verde oscuro para el macho wt y en verde oliva para el cv. Junto a estas MF observadas para estos machos en una competición con un adversario diferente se presentan dos columnas más. La primera recoge la MF cuando se presentó un macho del tipo en cuestión ante una hembra cv. La segunda presenta la frecuencia esperada para un solo macho en experimentos en que

competían dos machos iguales (recordemos que es la mitad de la MF hallada en estos experimentos). Esto nos permite buscar diferencias en la MF debidos a dos causas distintas. Primero, si a la MF del macho le afecta la presencia de un segundo macho y, en segundo lugar, si afecta el hecho de que ese macho sea diferente.

Las MF de los machos en competición son muy inferiores a cuando los machos se presentan en solitario siendo, además, significativamente distintas. La habilidad para lograr la cópula de un macho habría de ser muy superior a la de su adversario para no verse afectada por su presencia.

Respecto al efecto que produce que el segundo macho sea diferente, parece que los machos wt mejoran mucho su frecuencia cuando el adversario es cv, mientras que los machos cv apenas varían en sus resultados (**tabla 8.3**). De hecho, si atendemos de la comparación con su MF cuando no hay competición, vemos que el hecho de competir con un macho cv afecta al macho wt de un modo que casi no es significativo ($p=0,042$; primera fila de la tabla titulada “COMPARANDO LOS MACHOS”). Sin embargo cuando el competidor es un igual la frecuencia disminuye considerablemente. Para los machos cv, al contrario, el descenso en la MF que provoca el hecho de competir es igual de acusado, independientemente de las características del adversario.

En la segunda gráfica de la **figura 8.3** aparecen los CL para este mismo tipo de experimento, agrupados de un modo que hace fácil compararlos. La significación estadística de estas diferencias está también recogida en la **tabla 8.3**. Los cambios en CL no son significativos en ningún caso, de modo que no es lícito afirmar, tal como parece en el gráfico, que cuando compiten dos machos diferentes se llegue antes a la cópula que cuando éstos son iguales. Tampoco se puede afirmar que la hembra tarde menos en llegar a la cópula cuando se enfrenta a dos machos diferentes que cuando éstos se presentan individualmente.

Antes de concluir el análisis veamos como se distribuyen estos experimentos, y todos aquellos con los que podríamos compararlos, en el calendario. Todos los experimentos de este tipo los realizamos en Enero, y también realizamos todos los posibles tipos de experimentos con que compararlos. Las comparaciones las hemos realizado sin discriminar en el mes en que se realizaron los experimentos pero los valores obtenidos por los diferentes experimentos para este mes no difieren significativamente de las medias anuales. Sólo en dos casos las diferencias fueron significativas. El CL de los experimentos con dos machos cv ante una hembra cv es significativamente menor ($U=417$; $Z=3,312$; $p=0,002$) si comparamos el mes de enero con el resto (221 frente a 293 segundos). Aunque empleemos este CL los resultados de los diferentes tipos de experimentos siguieron sin ser significativos. Los experimentos con dos machos wt ante una hembra cv del mes de Enero difieren significativamente ($\chi^2=7,099$; $gl=1$; $p=0,008$) de los del resto

del año en la MF, siendo la primera del 43% y la segunda del 59%. Esto respalda la idea de que, al menos en estos experimentos, la hembra mejora su MF cuando se encuentra con dos machos diferentes y no cuando son iguales (aunque, insistimos, siguen siendo inferiores a los resultados de la hembra en solitario con el macho más competente).

Respecto al resto de experimentos con competición entre dos machos diferentes, los tres comparten una característica que ya hemos comentado: el macho menos competente es el que carece de alas. Esto tiene consecuencias sobre los posibles análisis, pues no realizamos experimentos en que compitan dos machos sin alas. Por ello la MF de la hembra sólo la podemos comparar con un único valor con competición (cuando compiten dos machos alados iguales). Además, en este mismo sentido, no tenemos valores para la MF o el CL de machos sin alas en competición con un igual. Esto lleva a que la MF del macho alado sólo podamos compararla con su MF (la mitad de la de la hembra) cuando compite con un macho idéntico a él. Es por eso que faltan barras en las respectivas gráficas (**figuras 8.4, 8.5 y 8.6**) y filas en las tablas (**tablas 8.4, 8.5 y 8.6**).

Dos de las conclusiones que hemos extraído del anterior experimento son también válidas en los experimentos que describimos a continuación. En primer lugar, la MF del macho siempre es inferior cuando hay competición que cuando se presentó el macho en solitario. Incluso en los casos de machos sin alas que presentan cuando no compiten valores de MF relativamente bajos. Por ejemplo, en el experimento en que compiten dos machos wt, uno con alas y otro sin ellas, por copular con una hembra wt las MF de los machos son, respectivamente, del 39 y el 38%. Estos mismos machos, en solitario ante este tipo de hembra obtuvieron, de nuevo respectivamente, MF del 81 y el 52% (más detalles en la segunda tabla de la **tabla 8.4**). A este respecto, todos los cambios en la MF son significativos.

Otra conclusión común es que la frecuencia de cópula de la hembra aumenta con respecto a la que se da cuando ella se encuentra en solitario con el macho menos competente de los dos. En los tres tipos de experimentos descritos a continuación éste siempre carecía de alas. Como decimos, la introducción de un segundo macho alado mejora siempre (y significativamente) la frecuencia de cópula de la hembra y también su CL. Un ejemplo para ilustrar la explicación. Una hembra cv copula el 24% de las veces con un macho cv sin alas, mientras que si incorporamos al experimento un macho wt alado, ella pasa a copular el 58% de las veces (aunque lo hace, en este caso, mayoritariamente con el macho alado). Este resultado es una consecuencia lógica del papel en el cortejo de la canción nupcial. Sin embargo lo que sí varía entre unos experimentos y otros es en la medida que esa mejora de la frecuencia de cópula de la hembra repercute exclusivamente, o no, en el macho que es capaz de cantar. En este punto es importante recordar que en la bibliografía (Ewing

1961, 1964) se suele postular, sobre todo en los trabajos más antiguos, que los machos sin alas suelen aprovechar la capacidad de canto de sus adversarios alados.

4.2.3.2- ♂wt/♂wt sin alas x ♀wt

En la primera tabla de la **figura 8.4** se muestra las MF observadas, tanto para los machos como para la hembra, en este tipo de experimentos. Además, tal como viene siendo habitual, también presentamos las MF de los experimentos con los podemos compararlas. La significación estadística de estas comparaciones está recogida en la **tabla 8.4**.

Prestemos, en primer lugar, atención al MF de la hembra. En este experimento las hembras copularon en el 60% de los casos. Este porcentaje de copulas es significativamente menor al que se produce cuando ambos machos tienen alas. El que uno de los competidores no tenga alas reduce significativamente la frecuencia de cópula. Esto ocurre, aunque no siempre significativamente, en los tres tipos de experimentos en que uno de los machos no tienen alas.

La MF de la hembra es significativamente mayor que ante un único macho sin alas. Sin embargo no es distinta si la comparamos con la de los experimentos en que hay un único macho alado, aunque aumenta levemente. Quizá el nivel de canto, que es equivalente en ambos casos (hay un único macho alado, acompañado o no), sea lo que determina la frecuencia con que copula la hembra wt.

Esto no quiere decir que el macho sin alas apenas participe, puesto que ambos machos se reparten, casi al 50%, el número de cópulas. De hecho no es distinta la MF de un macho wt alado compitiendo con un macho wt sin alas de la obtenida cuando se encuentra ante otro wt alado. Es decir, un macho wt no alado compite de igual a igual con uno alado. Parece, por tanto, que en este caso se confirma que el macho sin alas se beneficia de la capacidad de canto de su competidor. Aunque ya adelantamos que esto ocurre solamente en este tipo de experimento.

Veamos que ocurre con el CL. En la segunda gráfica de la **figura 8.4** están recogidos los valores medios para diferentes tipos de experimentos y la significación de los cambios, de nuevo, aparece en la **tabla 8.4**. Tal como se observa en la tabla sólo son significativas las mejoras en el CL, tanto de la hembra como del macho, cuando se comparan los experimentos con un único macho sin alas con aquellos en que se añade un segundo macho alado. Que el macho sin alas logre una reducción significativa del CL al añadir un macho alado confirma que el canto del macho alado facilita que cualquiera de los dos machos logre copular. Es interesante notar que, en este caso, cuando el experimento pasa de incluir un único macho sin alas a dos machos, uno de ellos alado, se

reduce el CL del macho sin alas pero, a la vez, también disminuye su frecuencia de cópula. Es decir, logran copular más rápidamente pero lo hacen en menor número de ocasiones.

Respecto a la distribución de estos experimentos en el calendario, vemos que se realizaron de septiembre a enero. En estos meses realizamos también experimentos de todos los tipos de experimentos con los que comparar estos resultados. Solamente hay una diferencia significativa en nuestras variables dependientes entre los experimentos realizados estos cuatro meses y los realizados el resto del año: la frecuencia de cópula de los machos wt sin alas cuando no hay competición es del 62%, mientras que la anual ronda el 53%. Pese a esta diferencia, el aumento de la frecuencia de la cópula al 78% por incluir un segundo macho alado sigue siendo significativo ($\chi^2=8,382$; $gl=1$; $p=0,004$) y, desde luego, el macho sin alas copula con menos frecuencia de lo que lo hace si no hay competición (pasa del 62 al 38%).

4.2.3.3- ♂wt/♂cv sin alas x ♀cv

En primer lugar, tal como viene siendo habitual, prestaremos atención al MF de las hembras. Gráficamente se pueden comparar las MF de interés en el estudio de este tipo de experimentos en la primera de las gráficas de la **figura 8.5**, mientras que los análisis estadísticos están recogidos en la **tabla 8.5**.

Comparando la frecuencia de cópula de la hembra entre este experimento y los correspondientes sin competición aparece la primera diferencia interesante. Y es que en este caso, al contrario que en los dos precedentes, la MF de la hembra es significativamente menor que la que presenta esta misma hembra ante el macho competente (en este caso, cv con alas). Es decir, que mientras que hasta este momento la MF la hembra no variaba significativamente con la presencia de un segundo macho menos competente, en este caso no ocurre así y la hembra copuló en competición con menos frecuencia que la que mostraron al encontrarse a solas con el macho más competente. De hecho también afecta al CL, aumentando éste en el caso de la competición. Este efecto coincide con el fenómeno que hemos descrito anteriormente: el hecho de que haya dos machos iguales reduce la MF de las hembras cv. De hecho el mismo efecto se aprecia en los experimentos del último tipo (♂cv/♂wt sin alas x ♀cv). También se dio cierto descenso, aunque no fue significativo, en la MF de las hembras cv que participaron en el primer tipo de experimento (♂wt/♂cv x ♀cv) que hemos mencionado. En general podemos decir que cuando el macho que se incorpora es igual o menos competente que el primero la MF de la hembra cv disminuye. Si

comparamos con su MF con el macho menos competente, ésta, de nuevo, aumenta significativamente.

Veamos que ocurre al comparar los MF referidos a los machos. La frecuencia de cópula de ambos es significativamente inferior que cuando no compiten, tal como hemos dicho que ocurría en todos los casos. Al compara la MF del macho wt alado cuando compite contra un macho igual con la que obtiene en este experimento encontramos, como ocurrió en el primer experimento ($\sigma^{\text{wt}}/\sigma^{\text{cv}}$ x φ^{cv}), que su MF aumenta. En concreto el macho wt pasa de copular un 30% de las ocasiones cuando compite contra un igual a hacerlo el 47% de las veces cuando compite con el macho cv sin alas. Esto no fue así en el caso anterior ($\sigma^{\text{wt}}/\sigma^{\text{wt}}$ sin alas x φ^{wt}), en que el hecho de competir perjudicaba al macho wt alado con el no alado en la misma medida que cuando compitió con otro wt alado. Y en el próximo experimento, en que el macho menos competente es de nuevo un wt sin alas, tampoco se da un cambio significativo en la MF del macho competente. Parece que los machos wt, aún en circunstancias en que su capacidad de copular está bastante comprometida, son competidores más incómodos que los cv.

En cuanto a si la introducción de un macho alado es aprovechada por el macho sin alas vemos que aunque es notable el aumento del número de veces que la hembra copuló (respecto al experimento sin competición con el macho sin alas) de este aumento es responsable, principalmente, el macho wt. El macho cv sin alas apenas si copuló en estos experimentos el 11% de las ocasiones, representando este porcentaje un 20% del total de cópulas. Tampoco mejoró su CL con la presencia de un macho alado.

Los valores del CL que pueden interesar en las diferentes comparaciones están representados en la segunda gráfica de la **figura 8.5** y los análisis pertinentes recogidos en la **tabla 8.5**. Aquí también encontramos resultados novedosos. Mientras que en el experimento anterior (y también ocurre en el próximo) sólo son significativos los cambios en CL de macho y hembra con respecto a los experimentos sin competición en que participa el macho menos competente, en este experimento también hay cambios en lo referente al CL del macho competente (el macho wt alado). Tal como hemos comentado en el párrafo anterior, se produce un aumento del CL de la hembra cuando se compara el experimento sin competición σ^{wt} x φ^{cv} (CL=275s) con el que ahora nos concierne (CL=388s). Es decir, la introducción del macho cv sin alas aumenta el CL de estos experimentos, además de reducir la MF, lo que parece un efecto contradictorio.

Este CL puede haber aumentado por dos motivos, dado que el CL de la hembra se configura tanto con los experimentos en que copula el macho wt como con los que copula el macho cv. Lógicamente puede haber aumentado por incorporar copulas de estos machos cv sin alas, que

normalmente son más lentos y, por tanto, harán crecer el valor de la media. La causa también puede ser que la presencia del macho sin alas reduzca el CL del propio macho wt, es decir, realmente le entorpezca. Puesto que el aumento del CL también se produce aunque lo refiramos exclusivamente a los tiempos que invierte en copular el macho wt podemos concluir que, realmente, la presencia del macho cv sin alas complica la cópula del macho competente.

En este caso es especialmente importante fijarnos en el calendario, porque los valores que hemos comparado están mayoritariamente realizados en meses muy diferentes. La mayor parte de los experimentos con dos machos diferentes ($\text{♂wt}/\text{♂cv sin alas} \times \text{♀cv}$) fueron realizados entre los meses de mayo y agosto. En esta época sólo se realizaron 27 experimentos del tipo $\text{♂wt}/\text{♂wt} \times \text{♀cv}$ (de un total de 127) y 56 (de un total de 312) de los experimentos sin competición con un macho wt ante una hembra cv. De hecho en el mes que más experimentos en que compiten dos machos diferentes realizamos, junio, no realizamos ninguno con dos machos wt alados y tan solo cinco del macho cv sin alas.

No es extraño que ni la MF ni el CL de todos estos experimentos difiera significativamente en estos meses con respecto a los valores medios anuales. En general las frecuencias de cópula son significativamente menores en los experimentos sin competición y los CL significativamente mayores. Y por todo esto debemos tomar con mucha cautela las conclusiones extraídas de estos resultados.

Decidimos que tampoco tenía sentido realizar las comparaciones para un periodo más restringido porque difícilmente encontramos uno que nos brindase un número suficiente de experimentos de todos los tipos con una representatividad razonable de todos ellos.

4.2.3.4- $\text{♂cv}/\text{♂wt sin alas} \times \text{♀cv}$

Las diferencias entre la MF o los CL en este último de los tipos de experimento con competición entre dos machos diferentes los podemos apreciar en la **figura 8.6**. Los análisis estadísticos de dichas comparaciones están recogidos en la **tabla 8.6**. En ella se recogen las comparaciones con otros experimentos (con o sin competición) de la MF y del CL tanto de los machos como de las hembras.

En primer lugar la MF de la hembra disminuye cuando compite si la comparamos con la obtenida en el experimento sin competición con el macho competente (el cv alado, en este caso). Esto ocurrió del mismo modo, es decir, se dio un descenso significativo de la MF, en el anterior experimento y en los experimentos donde competían machos iguales ante una hembra cv. Por el

contrario este fenómeno no se produjo ni en el primer experimento (con hembra cv) ni en el segundo (con hembra wt) ni en los experimentos de competición entre dos machos iguales con hembra wt. Aunque en el segundo experimento (con hembra cv) hay una reducción no significativa de la MF mientras que en los otros (todos con hembra wt) se produjo un aumento de ésta.

La frecuencia de cópula de la hembra es menor en este experimento que cuando compiten dos machos cv alados. Esto ha ocurrido del mismo modo en los tres experimentos en que compiten machos diferentes (de modo significativo o no) en que uno de ellos carece de alas. En el único en que esto no ocurre (el primero), la MF de la hembra aumenta si los machos son diferentes con respecto a cuando los dos son iguales (aunque el aumento no sea significativo en los dos casos). Es decir, que en los experimentos en que un macho carece de alas la hembra copula con menos frecuencia que si ambos tienen alas. Esto lo podemos comprobar comparando el primer experimento ($\sigma^{\text{wt}}/\sigma^{\text{cv}} \times \text{♀cv}$) con los dos últimos, idénticos excepto en que uno de los dos machos que participa no tiene alas. También es posible hacerlo comparando el segundo experimento ($\sigma^{\text{wt}}/\sigma^{\text{wt sin alas}} \times \text{♀wt}$) con su equivalente con dos machos alados wt ante hembra wt. Estas tres comparaciones se muestran en la **tabla 8.7** y, efectivamente, la presencia de un macho sin alas reduce la MF de la hembra en los tres casos, aunque sólo en dos de ellos significativamente (y, en el que no, roza la significación).

Respecto al MF de los machos, en este caso el macho competente (cv alado) no mejora su MF respecto a cuando compite frente a un igual. De estos cuatro experimentos en los dos que el macho menos competente es wt el macho competente no encuentra diferencias entre competir con éste o con un igual. Si el macho menos competente es cv, el macho competente, por el contrario, sí obtuvo mejores resultados que ante un igual.

Respecto a las modificaciones que se producen en el CL vemos que, tal y como ocurre en todos los experimentos de competición entre machos diferentes en que uno de ellos no tiene alas, el incorporar un macho alado (respecto a la situación sin competición con un macho sin alas) reduce el CL de la hembra. Sin embargo, como en el experimento anterior, esta mejora en el CL de la hembra no conlleva que el macho sin alas mejore su CL. De hecho, es significativamente mayor su CL medio en esta circunstancia. Así que, de nuevo, queda desmentida la posibilidad de que el macho sin alas pueda aprovechar el canto del macho alado.

Si atendemos al calendario veremos que estos experimentos fueron principalmente en mayo y junio. En esta época no realizamos ningún experimento con dos machos cv ante una hembra cv. De modo que las comparaciones con este experimento hemos de tomarlas con cautela. Los otros dos

tipos de experimentos que empleamos en las comparaciones no varían significativamente ni en la MF ni en el CL con los valores obtenidos para todo el año.

¿Qué conclusiones podemos extraer de toda esta serie de comparaciones? En primer lugar es importante insistir en que cualquier posible conclusión está comprometida por el hecho de que los meses hacen variar mucho tanto la MF como el CL. Este efecto para nosotros fue inesperado y no habíamos tenido la precaución de realizar experimentos de todos los tipos todos los meses. La consecuencia de esto es que las conclusiones que nos ofrece esta parte han de ser tomadas con mucha cautela. En este sentido confiamos más en las comparaciones que hemos hecho con los experimentos sin competición o en que compiten dos machos iguales, pues la distribución de los experimentos está razonablemente compensada en estos casos. Los resultados de las comparaciones en que están implicados experimentos con dos machos diferentes preferimos considerarlas sólo en la medida en que apoyen las primeras.

Aún a sabiendas de la fragilidad de estas conclusiones, realizamos todas estas comparaciones con la esperanza de encontrar algún resultado de interés referido a la posibilidad de que la hembra esté escogiendo su pareja. Dos son las cosas que queremos resaltar.

En primer lugar, que cuando el estímulo que ofrecen los machos es parecido, ya sea por ser dos o por no tener alas, es la propensión de la hembra a copular la que define el número de cópulas que se producen. La habilidad de los machos marca la frecuencia final de cópula cuando nada afecta, aumentando o disminuyendo la cantidad de estímulo que él, en solitario, puede presentar.

En segundo lugar queremos resaltar que ante una misma pareja de machos (del mismo tipo) dos hembras que en principio tenían propensiones semejantes a copular con ellos responden de manera muy diferente. Esto nos indica el relevante papel de las hembras, que no se limitan a responder de un modo prefijado a lo estimulante que les resulta un macho.

4.3- ¿Determina el resultado de una competición las habilidades para copular de los animales cuando no hay competición?

Nos propusimos comparar la capacidad de las moscas para copular cuando hay un único macho con los resultados obtenidos cuando hay dos machos. Los valores referidos a esta capacidad se compararían con los resultados obtenidos en los experimentos con competición a fin de evaluar en que medida la habilidad del macho o la propensión a copular de la hembra determinan el resultado final de la competición

La capacidad de copular de un macho la presuponemos relacionada con el CL y la MF obtenidos en experimentos sin competición. Mientras el CL es un valor que indica el tiempo que invierte una pareja concreta de moscas en llegar a copular, la MF siempre es una medida referida a un conjunto de parejas. Es decir, la MF se refiere siempre a un conjunto de parejas que se agrupan en virtud de alguna razón, que, en nuestro caso, es el valor que adoptan las variables independientes. Una pareja concreta lo que presenta en este sentido, es, sencillamente, una variable dicotómica (si o no) según hayan copulado o no. No tiene sentido referirse a la frecuencia de cópula de una única pareja (en nuestro caso en que cada individuo se utiliza solamente en una observación).

Ya conocemos los factores que afectan al éxito reproductivo en nuestros experimentos en cámara. Son los genotipos del macho y la hembra, el que el macho tenga o no sus alas, la edad, la hora del día y el mes en que se realizó el experimento. Dada la gran variedad de combinaciones que se pueden generar a partir de estos factores no disponemos de un número suficiente de controles que den cuenta de la CL o la MF que se obtienen en experimentos sin competición en todas las circunstancias en que realizamos los experimentos competitivos.

Es por ello que nos propusimos buscar un modelo que, en base a los experimentos sin competición realizados, estimase de un modo razonable la MF y el CL que hubiese presentado cada pareja macho-hembra en unas circunstancias dadas. Estos valores estimados son los que luego contrastaremos con los resultados obtenidos en los experimentos con competición. De este modo pretendemos calcular en que medida las habilidades del macho determinan, o no, el resultado de un experimento competitivo.

Es muy importante subrayar dos cuestiones. La primera de ellas es que nuestros modelos estimarán la capacidad para llegar a copular, en forma de CL o de MF, de ambos miembros de una pareja de moscas. Es decir, los modelos predecirán la habilidad para copular de ese macho en esas

circunstancias y ese valor representará, además, la propensión a copular de esa hembra en las mismas circunstancias.

La segunda cuestión a resaltar es que, por ser nuestras variables discretas los valores pronosticados más que referidos a un único individuo se refieren a un conjunto de moscas que comparten ciertas características (como el genotipo) y circunstancias (como el momento en que se llevó a cabo el experimento). Es decir, predice el valor que podemos asignar a todos los machos (o hembras) de una misma clase. Una clase de experimentos se refiere al conjunto de éstos en que los animales que participan presentan el mismo valor en todas las variables independientes. De tal modo que nuestros modelos pronosticarán una MF para una clase de experimentos y un CL medio para las moscas pertenecientes a esta clase.

4.3.1- Modelo que estima la probabilidad de copular.

De nuevo recurrimos a la regresión logística, que nos permite estimar la probabilidad de que se dé un evento en función de ciertas variables. El modelo se construye con una serie de casos, nuestros experimentos, caracterizados cada uno de ellos por ciertas variables predictoras (independientes) y una variable respuesta (dependiente) que ha de ser dicotómica. Esta variable respuesta es, de nuevo, “copuló” frente a “no copuló”. El modelo es capaz de pronosticar, según los valores que tomen las variables independientes, la probabilidad de que el evento (la cópula) se produzca. Se decide que el evento se ha producido cuando el valor de la probabilidad pronosticada supera el 0,5.

Sin embargo a nuestro la probabilidad de cópula pronosticada para cada clase nos es útil en sí, pues se puede entender este valor como el pronóstico de una frecuencia. Es decir, el modelo nos estima la probabilidad de que se produzca la cópula y la podemos interpretar como pronóstico de la MF dentro de una clase de experimentos. Este pronóstico de la MF se puede comparar con la MF real, a fin de calibrar lo predictivo que es el modelo.

Esta probabilidad de cópula que pronostica el modelo no nos es útil sólo como estimación de la MF, sino también como lo que es, una probabilidad estimada de que se produzca la cópula. A esta probabilidad pronosticada de que se dé la cópula de ahora en adelante la denominaremos p_{SC} . El subíndice SC se refiere a que es la probabilidad pronosticada para un experimento sin competición y que, por tanto, es aplicable al macho y a la hembra que participan en el experimento.

A la hora de buscar un modelo que prediga acertadamente la MF seguimos los pasos recomendados por Kleinbaum y Klein (2002). Las variables que introduzco en el modelo son aquellas que hemos registrado en nuestros experimentos, es decir, genotipo del macho y de la

hembra, presencia de alas en el macho, edad de las moscas, hora del día y mes del año. La edad la presentamos en tres categorías, porque resultó más eficaz a la hora de generar un modelo. Así mismo los intentos de utilizar las variables “hora del día” y “fecha” como valores continuos resultaron poco eficaces. Por tanto todas las variables utilizadas se consideraron categóricas, tal como hemos venido haciendo en toda esta parte de los resultados. El número de categorías para cada una de ellas fue de dos en el caso del los genotipos (wt o cv) y de la presencia o no de alas (si o no), tres respecto a la edad (3-4 días, 5-6 días y 7-8 días), 12 para los meses y 10 para las horas del día. Esta última variable merece una aclaración: consideramos que la variable hora presenta valor 1 cuando los experimentos se realizaron una vez transcurrida la primera hora desde que se encendieron las luces del incubador, es decir, entre los minutos 60 y 119; del mismo modo asignamos el valor 11 cuando los experimentos fueron realizados en la hora inmediatamente anterior al apagado de las luces. No realizamos experimentos en la hora cero ni en la hora quinta.

En una primera aproximación desarrollamos modelos que incluían, de una en una, todas las variables independientes (**tabla 9.1**). Todos los modelos resultaron significativos (esto es, fueron más predictivos que el modelo nulo), hallando mayor variación en el -2LogLikelihood en el que fueron incluidas las variables “presencia de alas” y “mes”. Según el signo de los coeficientes podemos entender el efecto de cada una de las variables sobre la probabilidad de copular. Hay que tener en cuenta que el SPSS toma como referencia la categoría que se presenta en último lugar, esto es, genotipo cv en ambos sexos, que el macho no tenga alas, que tengan 7-8 días de edad, que el experimento se realizase a la hora ZT11 o en el mes de diciembre. Teniendo esto en cuenta podemos decir que aumenta las probabilidades de copular que el macho y la hembra sean wt, que el macho tenga alas y que sean lo más viejos posible. En los meses se observa la ya mencionada depresión veraniega, excluyendo el mes de junio. Es decir, los experimentos realizados de mayo a septiembre tienen una probabilidad de cópula más baja, excepto en el mes de junio. En cuanto a las horas, se puede decir que los experimentos matutinos favorecen la cópula. Todos estos pronósticos han de ser matizados cuando consideremos las interacciones entre variables que hacen que el efecto de una variable dependa de una segunda variable (por ejemplo, que el macho tenga alas aumenta más la probabilidad de copular si la hembra es wt en vez de cv).

Dado que, como hemos dicho, todos los modelos con una única variable resultaron predictivos, realizamos todas las regresiones posibles que incluían parejas de variables (15 modelos). De estos modelos, también todos significativos, los que muestran mayores cambios en el -2LogLikelihood (desde aquí, -2LL) son aquellos que consideran la variable “presencia de alas” en combinación con cualquiera de las otras (resumen en la **tabla 9.2**).

El siguiente paso que dimos fue incluir en cada modelo, además de las dos variables, la interacción entre ambas. Para valorar la importancia de todas las posibles interacciones evaluamos cada modelo con interacción tomando como referencia el modelo sin esta interacción (pero con las dos mismas variables). En la **tabla 9.3** presentamos las diferencias en el -2LL entre los modelos con y sin interacción. La tabla sitúa en las filas y las columnas todas las variables y en la intersección de estas los valores correspondientes a la variación en el -2LL y la significación de este cambio.

Aunque muchas de estas interacciones resultan significativas, decidimos generar un primer modelo que incluyese todas las variables y sólo las interacciones que, a nuestro modo de ver, tienen interés biológico. Estas son cuatro: la interacción entre los genotipos del macho y de la hembra, la interacción del genotipo del macho y que éste mantenga sus alas, la interacción entre el genotipo de la hembra y que el macho tenga alas y, por último, la interacción de la edad con la hora del día (**tabla 9.4**). Si le pedimos al programa que de estas cuatro interacciones filtre las que mejoran el modelo (por cualquiera de los dos métodos que ya hemos descrito anteriormente) sólo considera interesantes las interacciones de los genotipos del macho y de la hembra con la presencia/ausencia de alas.

A este modelo le incorporamos las interacciones que aún no habíamos considerado y que resultaron ser significativas (según lo presentado en la **tabla 9.3**). En la **tabla 9.5** mostramos los cambios en el -2LL y su significación según se incorporan estas interacciones. Tomamos las cuatro interacciones que resultaron ser significativas y pedimos de nuevo al SPSS que fuese eliminando aquellas que no mejoraban el modelo. Finalmente se mantienen dos de estas cuatro interacciones, con lo que el modelo final es el que aparece en la **tabla 9.6**.

Este modelo final es razonablemente preciso. Mientras que el modelo nulo (que sería el que asigna los casos aleatoriamente el copular o no copular) ubica correctamente al 57,6% de los casos, el modelo que hemos seleccionado ubica correctamente al 72,8%. Este modo de evaluar el ajuste, aunque es interesante, quizá no es el más adecuado en este caso. En la **figura 9.1** presentamos las probabilidades que estimada el modelo para los experimentos sin competición frente a las MF reales observadas. El R^2 de la recta de regresión que se ajusta a la nube de puntos es algo superior al 0,5. Para afinar el ajuste presentamos una segunda gráfica en que no consideramos las clases de experimentos que contaban con cuatro casos o menos. Esto lo hacemos porque la MF en esos casos, independientemente de la probabilidad de cópula que se puede estimar, solamente puede tomar un conjunto muy limitado de valores y esto dificulta el correcto ajuste de la recta. Como se ve en la **figura 9.1** (segundo gráfico) el R^2 mejora sensiblemente.

Los diversos efectos de las variables no son fáciles de entender atendiendo solamente a los coeficientes, debido a las múltiples interacciones entre variables. Con el fin de facilitar la

comprensión de cómo afectan las variables de nuestro modelo a la probabilidad de copular, en la **figura 9.2** aparecen tres gráficas que representan como oscila la probabilidad estimada de copular en función de algunas de estas variables. Para que sea más sencillo comparar estas estimaciones con los valores que obtuvimos en la **figura 9.3** presentamos las MF (p_{sc}) que estima el modelo cuando no se tienen en cuenta el efecto del mes, la hora o la edad junto a las MF de los experimentos sin competición (las mismas que aparecen en la primera gráfica de la **figura 6.1**).

4.3.2- La posibilidad de considerar la talla: los experimentos de la primera parte.

Puesto que conocemos la longitud del ala de las moscas que participan en alguno de estos experimentos cabe la posibilidad de generar una regresión logística que considere además estas variables (talla del macho y talla de la hembra). En la primera parte de los resultados (epígrafe 3.1.2) describimos un modelo que pronosticaba la probabilidad de cópula en función de la talla de los animales. Empleamos en él los 132 casos en que se encontraban una hembra wt y un macho wt alado de 3 a 5 días de edad para los que disponemos de talla. Con este mismo tipo de moscas desarrollamos un nuevo modelo para pronosticar la MF. Decidimos no emplear los casos para los que disponemos del tamaño de moscas cv o sin alas porque, como ya hemos visto, considerar estas variables anula cualquier efecto del tamaño. Por tanto nos restringimos a generar un modelo empleando machos y hembras wt.

Tal como se vio entonces (**tabla 1.6**) el único modelo que resultó significativo incluía las variables talla del macho y de la hembra y su interacción, excluyendo del análisis algunas variables como la hora del día y la tanda de experimentos. Puesto que ahora queremos estimar una frecuencia de cópula y, como ya hemos dicho, la frecuencia sólo tiene sentido referirla a un conjunto de parejas (una clase) codificamos la talla como una variable continua para permitir la construcción de clases.

En primer lugar redujimos a cinco categorías cada talla, incluyendo la talla relativa del macho (el cociente entre la talla del macho y la talla de la hembra). Sin embargo ninguno de los modelos con una única variable de las consideradas (las tallas, la hora, la tanda) resultó ser significativo (**tabla 9.7**). El modelo más adecuado era el que consideraba ambas tallas y la interacción entre ellas (a modo, en este caso, de cociente). Probamos a reducir de cinco a tres el número de categorías de la variable talla, pero los resultados fueron aún menos significativos. Es por ello que desistimos de intentar calcular las probabilidades de cópula empleando la variable talla en el modelo.

4.3.3- Cómo ajustan las probabilidades estimadas por el modelo a los experimentos en que hay competición.

Una vez que tuvimos la capacidad, gracias al modelo, de estimar las probabilidades de cópula sin competición (p_{SC}) pudimos calcular los valores que dicho modelo pronostica para cada uno de los machos en competición.

Cuando la competición se da entre dos machos idénticos ambos machos obtendrán la misma probabilidad estimada de cópula. Así mismo la hembra participante en cada uno de estos experimentos presentara esta misma p_{SC} . Es decir, se obtiene una estimación de la probabilidad de cópula para unas circunstancias que es aplicable a todos los participantes.

En el caso de los experimentos con competición entre dos machos diferentes lo que obtenemos es una p_{SC} para cada uno de ellos frente a esa hembra. Para la hembra obtenemos dos resultados diferentes, cada uno de los cuales nos indica su propensión a copular con cada uno de los machos participantes.

¿Cómo se relacionan estas probabilidades de copular con la frecuencia real de cópula hallada? Es decir, ¿cómo se relaciona la p_{SC} con la MF de los experimentos con competición?

Una primera aproximación es enfrentar ambos valores en una gráfica y estimar, mediante una recta de regresión, en que medida están relacionados. Esto es lo que se muestra en las **figuras 10.1 y 10.2**, referidas, respectivamente, a los experimentos en que compitieron dos machos iguales o dos diferentes.

Cada figura consta de dos gráficas. La primera de ellas incluye la totalidad de las clases (recogen todos los experimentos realizados), mientras que en la segunda no consideramos las clases que contienen menos de cuatro experimentos. En cada gráfica aparecen dos rectas de regresión y dos series de puntos de diferente color. Una de ellos compara las probabilidades que estima el modelo (p_{SC}) con las MF de experimentos de competición. La segunda de ellas (los puntos rojos) lo que enfrenta es la MF obtenida en experimentos con competición con la MF de experimentos idénticos (en lo concerniente a las variables que consideramos) pero sin competición (los experimentos con competición frente a sus controles).

Hay una diferencia importante entre ambas figuras. En la figura referida a experimentos en que se utilizaron dos machos iguales (**figura 10.1**) lo que se compara es la MF obtenida en estos experimentos por la hembra, es decir, del total hembras que participaron qué proporción de ellas copuló. En la gráfica referida a los experimentos con dos machos diferentes (**figura 10.2**) esta comparación no es posible, pues la hembra obtiene dos p_{SC} diferentes (una con cada macho), de

modo que cada MF obtenida se compararía con dos valores diferentes. Sin embargo, en este caso podemos comparar las MF obtenidas por los machos, es decir, cuantas veces copuló un tipo de macho determinado del total machos de este tipo que participaron en esos experimentos competitivos. Para cada macho, desde luego, se obtiene una estimación de la probabilidad de copular única. Y éstos son los valores que se comparan en la figura.

Tal como se observa en las gráficas los valores de MF mantienen cierta correlación con las p_{SC} estimadas, aunque los valores no se ajustan de un modo completamente correcto. Tampoco se ajustan, desde luego, a los valores de MF de los experimentos sin competición. Y es que, *a priori*, parece muy poco probable que la frecuencia de cópula de una mosca en experimentos con y sin competición coincida (aunque, en este caso, la frecuencia sin competición sea una estimación). De hecho ya vimos cuando comparábamos directamente unos experimentos con otros que la MF referida al macho siempre es significativamente menor cuando éste participa en un experimento con competición.

4.3.3.1- ¿Cómo estimar la probabilidad de que se dé la cópula en un experimento en que compiten dos machos?

¿Qué determina que, finalmente, en un experimento en que compiten dos machos se llegue a copular? Decidimos probar dos aproximaciones al cálculo de la probabilidad de cópula en los experimentos con competición, es decir, la probabilidad de cópula de la hembra que participa en estos experimentos. Cada una de estas aproximaciones da prevalencia o bien a la propensión de la hembra a copular o bien a la habilidad de los machos para lograr hacerlo.

- Primera aproximación

Una posible aproximación es que la probabilidad de que se dé la cópula no varíe aunque haya dos machos. Es decir, que la probabilidad de copular en un experimento competitivo dependa exclusivamente de la propensión a copular de la hembra. De ser esto cierto la p_{SC} de la hembra en las circunstancias dadas será la que determine la probabilidad de copular en competición (p_{CC}) y, con ella, la MF de los experimentos competitivos. Si la propensión a copular de la hembra sin competición determina la MF final la incrementar el número de machos, iguales o distintos entre sí, no debe aumentar la frecuencia de cópula.

La manera de estimar esta p_{CC} solo dependiente de la propensión de la hembra es diferente según sean experimentos en que compiten machos iguales o distintos. En este primer caso es fácil estimar la p_{CC} , dado que la p_{SC} de la hembra tiene el mismo valor con los dos machos. Este será el valor que se utilice como probabilidad de cópula en la competición.

Cuando en el experimento se emplean dos machos diferentes, son dos las p_{SC} que se estiman para la hembra, una con cada macho. Como disponíamos de dos probabilidades estimadas pensamos en probar distintas aproximaciones al valor de la p_{CC} . Lo más lógico, desde nuestro punto de vista, es pensar que será la mayor de estas probabilidades la que mejor defina la MF final. Esto es, la hembra tiene más propensión a copular con uno de los machos que se le presentan, y esa mayor tendencia es la que marca el resultado final. También cabe la posibilidad de que la p_{CC} sea una probabilidad intermedia (la media aritmética de las p_{SC} para cada macho) entre las dos posibles. Es decir, que el resultado final sea proporcional al promedio de éxito que tendría cada macho actuando por separado. Esto vendría a ser equivalente a que la mitad de las hembras copulasen con el macho A en la frecuencia en que lo hace cuando no hay competición y la otra mitad de las hembras hiciese otro tanto con el macho B. Por último también probamos la hipótesis de que la probabilidad que mejor se ajuste al MF obtenido sea la menor de las dos p_{SC} . Esto vendría a significar que la hembra pone como límite el interés que le despierta el menos interesante de los dos machos que se le presentan.

- Segunda aproximación

Hay una segunda hipótesis, y es que sea la habilidad para lograr copular de los machos la que decida finalmente la MF en los experimentos con competición. Ambos machos copularían proporcionalmente a su habilidad y sólo no se produce la cópula en el estrecho margen en que ninguno de los dos machos es capaz de seducir a la hembra. Dicho de otro modo, la hembra copula con cada macho en función de su atractivo (el del macho) sin poner ella ninguna clase de límite.

Una posibilidad para calcular esta p_{CC} en función sólo de la habilidad de los machos es hacerlo como si la hembra se enfrentara sucesivamente a uno y otro macho. La probabilidad de la hembra de copular sería la suma de la p_{SC} del primer macho más la proporción de veces que copularía con el otro macho cuando no lo hubiera hecho con el primero. Esta probabilidad sería la de que no copulase el macho A, es decir $(1 - p_{SCA})$, multiplicada por la probabilidad de que copule el B (p_{SCB}). Intentando ser clarificadores, veamos si la siguiente expresión matemática facilita las cosas. Las p_{SC} de cada macho las llamamos, respectivamente para los machos A y B, p_A y p_B . La probabilidad p_{CC} será igual a $p_A + (1 - p_A) \cdot p_B$.

Podemos seguir otro camino para calcular esta p_{CC} , considerando que los machos se presentan simultáneamente. Es decir, los machos no se presentan sucesivamente, como asumimos en el cálculo anterior. Como hay dos machos participando, cuatro son las posibles situaciones que se pueden dar. Que el macho A copule y el B no ocurre con probabilidad $p_A \cdot (1-p_B)$. Simétricamente puede ocurrir que el B copule, pero no el A, lo que ocurrirá con probabilidad $p_B \cdot (1-p_A)$. También puede ser que ambos consigan, hipotéticamente, copular, lo que ocurre con probabilidad $p_A \cdot p_B$. Esto es físicamente imposible y de algún modo dirimirán el empate, pero de momento resolver este empate no tiene interés y nos limitaremos a asumir que se aparee cualquiera de los dos (y, por tanto, que la hembra copula). Finalmente puede ser que ninguno de los dos consiguiera copular. Esto ocurre con probabilidad $(1-p_A) \cdot (1-p_B)$ y es la probabilidad de que la hembra no copule si esto depende exclusivamente de la habilidad de los machos. La probabilidad de que la hembra copule será 1 menos la probabilidad de que no lo haga. Es decir, si lo que determina la MF de la hembra en experimentos competitivos es la habilidad de los machos para fomentar la cópula la p_{CC} será igual a $1 - [(1-p_A)(1-p_B)]$.

Las dos expresiones que hemos presentado para calcular esta p_{CC} son equivalentes. Es decir, el valor de la probabilidad de que copule la hembra en experimentos con competición si esto depende de la habilidad de los machos es el mismo bajo cualquiera de estos dos enfoques. Dicho de otro modo: $p_{CC} = 1 - [(1-p_A)(1-p_B)] = p_A + (1-p_A) \cdot p_B$.

Lo que si es claramente diferente entre estas dos teorías es la probabilidad de que copule cada macho. De hecho, si asumimos que es como si los machos se introdujesen sucesivamente, la probabilidad de cópula de cada macho varia según quien asumamos que fue introducido primero. Por otro lado en la segunda hipótesis, la de la presentación simultanea, no hemos concluido como decidir que macho es el que copula cuando el cálculo indica que copulan los dos. Esta hipótesis es de las dos referidas a los machos la que nos resulta más plausible. En principio esperábamos que el modelo que pronostica los CL nos hubiera permitido dirimir en que proporción copula cada uno cuando se estima que debieran lograr copular los dos.

4.3.3.2- Comparando las probabilidades estimadas con los resultados experimentales

Tenemos, en función de estas dos aproximaciones, dos probabilidades construidas referidas a la probabilidad de que se dé la cópula en un experimento con competición (es decir, dos p_{CC}). Son la p_{CC} calculada si lo que determina la MF es la propensión a copular de la hembra (p_{CC} femenina) y

la p_{CC} calculada si el factor determinante son las habilidades para copular de los machos (p_{CC} masculina).

Para contrastar cual de ellas predice mejor lo que ocurre en realidad pretendemos compararlas con las MF obtenidas en los experimentos con competición. Dos son los modos de comparar los resultados predichos con los obtenidos experimentalmente.

- Comparar directamente p_{CC} y MF

Un primer modo de comparación, gráfico, aparece reflejado en la **figura 10.3**. En ella se presentan los valores de p_{CC} calculados bajo ambas hipótesis enfrentados a la MF que hallamos en los experimentos. En esta gráfica están presentes los valores de p_{CC} y MF de todos los experimentos en que compiten dos machos. Como se puede apreciar no es mucho mejor el ajuste cuando la p_{CC} se calcula asumiendo que sólo la propensión a copular de la hembra es decisiva, pero sí es algo mejor.

Realizamos una serie de análisis estadísticos a fin de comprobar si se pueden decir que la MF es diferente o no de las dos p_{CC} estimadas. Los resultados aparecen en la **tabla 10.1**. Puesto que las variables en cuestión (las probabilidades) no se distribuyen como una normal, además del test t para muestras apareadas realizamos su equivalente no paramétrico: el test de rangos asociados de Wilcoxon.

De los ocho tipos de experimentos evaluados la diferencia entre MF y p_{CC} fue más veces significativa cuando ésta fue calculada a partir de las p_{SC} de los dos machos. Cuando interpretamos que la p_{CC} no debía ser distinta a la p_{SC} de la hembra el ajuste sólo resultó no significativo en los experimentos en que se emplearon dos machos wt y la hembra era, así mismo, wt. Es decir, suele ajustar mejor la hipótesis de que es la propensión a copular de la hembra la que determina el resultado final en las competiciones.

De todos modos la p_{CC} masculina no es distinta en muchas ocasiones a la MF obtenida. De hecho en la mayoría de los casos ambas pueden ser validas, puesto que en tres casos no ajusta el cálculo de la p_{CC} según los machos ($\sigma^{wt}/\sigma^{wt} \times \varphi^{cv}$, $\sigma^{cv}/\sigma^{cv} \times \varphi^{cv}$ y σ^{wt}/σ^{wt} sin alas $\times \varphi^{wt}$) y en una ($\sigma^{wt}/\sigma^{wt} \times \varphi^{wt}$) la p_{CC} calculada según la hembra.

En las gráficas de la **figura 10.5** se comparan las dos p_{CC} con la MF obtenida para los experimentos en que compiten dos machos iguales. Esto mismo lo hicimos para los experimentos en que compiten machos diferentes en la **figura 10.7**. En las ocho gráficas se observa lo diferentes que son las MF de las p_{CC} . En general los valores están muy alejados de la diagonal (que es la línea

donde p_{SC} y MF tendrían el mismo valor). Este desajuste también se refleja en lo bajo de los R^2 de las rectas de regresión.

Uno de los problemas que dificultan el ajuste ya lo hemos comentado: en las clases en que hay pocos experimentos la MF sólo puede tomar unos valores muy concretos. Quizá un ejemplo clarifique esta apreciación. Imaginemos una clase en que conocemos la p_{SC} , (no la estimamos, éste es su valor real), que es 0,8. Si la clase contiene 3 experimentos se copularía en los tres (MF=100%). Si hubiera contenido cuatro experimentos, también se habría copulado en todos ellos (MF=100%). Un número bajo de experimentos por clase causa que el valor de MF, al estar muy limitado en los valores que puede adoptar, dificulte el ajuste.

Por esta dificultad decidimos hacer las comparaciones del modo que desarrollamos en el siguiente apartado. Lo que hacemos es comparar el número de cópulas que se producen (o no) en cada clase con el número de casos que, bajo cada una de las hipótesis, se estima que hubieran copulado (o no).

- Comparar el número de cópulas observadas con las estimadas

Un segundo modo de comparar como de bien ajustan las probabilidades calculadas a las frecuencias encontradas es analizar cuanto se parecen los valores que se observan con los esperados. Con el número de experimentos de cada clase y la p_{CC} podemos calcular el número esperado de cópulas (si esa hipótesis es cierta) en cada clase. Por el mismo sistema podemos calcular el número esperado de ocasiones en que no se produjo la cópula. El número de experimentos en que se copula y también en los que no se copula en cada clase serán los valores observados. Para decidir si los valores esperados se ajustan a los observados realizamos una serie de test χ^2 cuyos resultados aparecen reflejados en las **tablas 10.2 y 10.3**.

Cuando compiten dos machos iguales disponemos de dos valores como p_{CC} , uno por cada hipótesis. Cuando los dos machos son diferentes encontramos que para calcular la p_{CC} femenina disponemos de dos p_{SC} de la hembra, una para cada macho. Las opciones, como ya hemos mencionado, son usar el valor menor, el mayor o la media de estas dos probabilidades estimadas. Los resultados de estas tres aproximaciones aparecen reflejados en la **tabla 10.3**.

En la **tabla 10.2** se presentan los resultados para los experimentos en que compiten dos machos iguales y dos distintos. Prestemos atención, en primer lugar, a los resultados de los experimentos en que compiten machos iguales. En todos los casos se ajusta mejor las estimaciones según la perspectiva de la hembra a los casos observados. De los cuatro experimentos sólo en uno de ellos, en el que participan dos machos wt y una hembra cv, no se ajusta significativamente. El

ajuste sí es significativo en los otros tres. Esto quiere decir que en estos tres casos asumir que la probabilidad de que la hembra copule en un experimento donde dos machos compiten es la misma que la probabilidad de que lo haga ante un solo macho (del mismo tipo, eso sí, de los que participaron en la competición) se aproxima bastante a los resultados obtenidos experimentalmente.

Respecto al caso en que no ajustan significativamente los resultados observados con los esperados calculados con la p_{CC} definida por la hembra, tampoco se ajustan si utilizamos la p_{CC} masculina. De hecho la probabilidad de que sean diferentes es aún mayor

En la serie de gráficas presentadas en la **figura 10.4** se oponen los valores observados y los esperados. El caso en que no hay ajuste ($\sigma_{wt}/\sigma_{wt} \times \varphi_{cv}$) corresponde a la tercera de las gráficas. Se puede ver que las líneas de tendencia quedan más horizontales que la diagonal de 45° (que indica la línea donde los valores observados y esperados coinciden). Esta horizontalidad lo que denota es la escasa variación que hay en los valores esperados frente a la gran variabilidad de los observados. Esto no sólo se debe a problemas de ajuste entre la MF y la p_{CC} , sino que también depende del número de experimentos en cada categoría. Sin embargo, puesto que ambas series de puntos no se diferencian en esta circunstancia, sí observamos que ajusta peor la recta construida a partir de las p_{SC} de los machos. Aunque también es cierto que el ajuste de ninguna de las dos rectas es bueno, sobre todo comparadas con las de los otros tres tipos de experimentos, pues ambas presentan un R^2 inferior al 0,4.

Volvamos a prestar atención a las gráficas de la **figura 10.5**, donde se enfrentan las dos p_{CC} con la MF obtenida experimentalmente. En el tercer tipo de experimento ($\sigma_{wt}/\sigma_{wt} \times \varphi_{cv}$), en él que no hay ajuste según el test χ^2 , vemos que gran cantidad de valores están muy por encima de la diagonal. Esto quiere decir que los valores calculados para la p_{CC} son mucho mayores que la MF. Es decir, que nuestra aproximación sobreestima el número de veces que se copula y, por consiguiente, se subestima el número de veces en que esto no ocurre. Este hecho, desde luego, dificulta que los valores observados y esperados se parezcan.

Respecto a los experimentos en que compiten dos machos diferentes, atendamos primero a la **tabla 10.3**. En ella aparecen las comparaciones de los valores observados con los esperados calculados usando la p_{CC} cuando ésta se considera idéntica a la p_{SC} de la hembra. Recordemos que cabían tres posibilidades: tomar como p_{CC} la mayor de esas p_{SC} , tomar la menor o tomar el valor medio.

Como se observa en la tabla de los cuatro tipos de experimento en que compiten dos machos diferentes solamente en el cuarto de ellos ($\sigma_{cv}/\sigma_{wt} \text{ sin alas} \times \varphi_{cv}$) los valores estimados no se ajustan correctamente a los observados. En los otros tres experimentos ajusta siempre mejor la primera de las propuestas, esto es, que la hembra en competición tiene la misma tendencia a copular

que la que muestra cuando se le presenta solamente el macho con el que muestra más propensión a copular (él que le parece más “atractivo”). Por ello de aquí en adelante cuando nos refiera a la p_{CC} calculada según la propensión de la hembra nos estaremos refiriendo a la calculada con la máxima propensión mostrada.

En la **tabla 10.2** podemos comparar los resultados obtenidos por los test χ^2 según utilizamos para calcular los valores esperados la p_{CC} femenina o la masculina. En general ajusta mejor cuando empleamos la p_{CC} que exclusivamente depende de la hembra. No hay que olvidar que la significación de la prueba (p) nos indica la probabilidad de que la diferencia entre valores observados y esperados que ocurre se deba al azar. De modo que a mayor es este valor (la significación) mayor es la probabilidad de que los valores observados y esperados sean iguales. La p_{CC} calculada según los machos no ajusta ni en el segundo (σ^{wt}/σ^{wt} sin alas x ϕ^{wt}) ni en el cuarto (σ^{cv}/σ^{wt} sin alas x ϕ^{cv}) de los experimentos. Por el contrario los esperados calculados con la p_{CC} femenina sólo no se ajustan en este cuarto experimento.

En la **figura 10.6** podemos observar como se enfrentan los valores observados y esperados según ambas hipótesis para cada uno de estos experimentos. En las dos primeras gráficas la práctica totalidad de los puntos se sitúa muy cerca de la diagonal. Esto es, los valores calculados para las p_{CC} ajustan muy bien a las MF observadas. El ajuste no es tan bueno en los dos últimos tipos aunque nada hace sospechar las grandes diferencias que encuentra el test χ^2 entre valores observados y esperados en el cuarto caso. La causa de esta falta de ajuste la encontramos si acudimos de nuevo a la **figura 10.7**. En el cuarto caso (σ^{cv}/σ^{wt} sin alas x ϕ^{cv}) observamos que a los valores de p_{CC} que se mueven cerca del cero les corresponde un rango muy amplio de MF. El motivo de la falta de ajuste es, por tanto, el que los valores que predicen una baja probabilidad de copular subestiman el número de cópulas que en realidad se da. Es por ello que los valores observados y esperados difieren tanto. En la gráfica adjunta (**figura 10.8**) se ve que para valores pronosticados muy bajos la diferencia MF- p_{CC} adopta una gran cantidad de valores, todos ellos de signo positivo.

Es muy importante tener en cuenta que las divergencias aparentes en los resultados entre los test χ^2 y la comparación gráfica de casos observados contra esperados puede deberse a que el cálculo del test, al elevar las diferencias al cuadrado, trabaja con diferencias en valor absoluto, mientras que las representaciones gráficas no hacen tal distinción.

Como ya hemos comentado anteriormente el que una clase presente muy pocos experimentos hace que los valores que puede tomar su MF sean muy limitados. Esto, a la postre, reduce la efectividad al compararla directamente con las probabilidades que estimamos, pero no

debería afectar demasiado a la comparación de casos observados y esperados. Aún así repetimos todos los análisis χ^2 eliminando todas las clases que no presentaban al menos tres experimentos. El resultado de estos análisis lo presentamos en la **tabla 10.4**. En general los resultados no difieren a los obtenidos cuando no descartamos ninguna categoría (**tabla 10.1**).

4.3.4- Modelo que estima el tiempo hasta la cópula.

De entre los experimentos sin competición que realizamos utilizamos los 1530 en que se había copulado (que tenían asociado un valor de CL) para tratar de establecer un segundo modelo que predijese qué macho de los dos copularía en los experimentos con competición. La idea inicial era, de nuevo, encontrar un modelo que predijese bien el CL de los experimentos sin competición y luego, estimando los valores que corresponderían a las moscas participantes en los experimentos competitivos, tratar de relacionar estos valores con el resultado final del experimento. Cada valor de CL pronosticado presenta un error típico; estos valores se pueden entender como la media y la desviación típica de una curva normal. Cuando compiten dos machos cada uno de ellos presenta un CL pronosticado y, por tanto, tendremos dos curvas normales alrededor de sus respectivos tiempos hasta la cópula. Con estas dos curvas normales se puede calcular la probabilidad de que un macho sea más veloz que el otro copulando (presente un CL menor) y, a partir de ahí, analizar que relación tiene esta estimación con los resultados experimentales.

Puesto que no empleamos ninguna variable continua decidimos generar un modelo tipo ANOVA. La función GLM del SPSS nos permite generar modelos, semejantes a una recta de regresión, empleando variables discontinuas. En primer lugar comenzamos probando todos los modelos que incluían cada una de nuestras variables por separado (**tabla 11.1**). Todas las variables introducidas resultaron ser significativas, excepto la edad. Sin embargo los R^2 son realmente bajos en todos los casos. Haciendo caso omiso a esta circunstancia generamos un modelo incluyendo todas las variables (**tabla 11.2**) sin ninguna interacción entre ellas. El modelo resultante tiene un $R^2_{\text{corregido}}$ algo superior a los modelos que sólo incluyen una variable. De estas variables, tres no resultan significativas: la edad, la hora del día y el genotipo de la hembra, en orden inverso a su significación. Realizamos un modelo sin la edad y el $R^2_{\text{corregido}}$ mejoró, pero eliminar cualquiera de las otras dos variables lo hace disminuir.

El siguiente paso fue ir introduciendo progresivamente interacciones entre las parejas de variables. Realizamos los 10 modelos, que incluían todas las variables (excepto la edad) y una única

interacción. En la **tabla 11.3** aparecen reflejados para cada uno de estos modelos el $R^2_{\text{corregido}}$ y el número de grados de libertad que incorpora al modelo cada variable. De todas estas interacciones sólo dos de ellas resultan significativas en los modelos (la interacción de “mes” con “genotipo de la hembra” y con “presencia de alas”). Como se ve, sus $R^2_{\text{corregido}}$ mejoran respecto al modelo sin interacción. También mejora este valor, aunque esta interacción no resultó ser significativa, cuando incorporamos al modelo la interacción del mes con la hora. Por tanto el modelo final, que aparece resumido en la **tabla 11.4**, incluye estas tres interacciones ($R^2_{\text{corregido}}=0,143$).

¿Cuán predictivo es este modelo? El relativamente bajo $R^2_{\text{corregido}}$ no promete que nos vaya a ser muy útil para hacer pronósticos.

El error más bajo de los que calcula el SPSS (error estándar de nuestra muestra) es el error alrededor del valor medio para las variables explicativas del modelo. En nuestro caso es el error calculado para los experimentos en que el macho y la hembra son wt, el macho tiene alas, el experimento se realizó en la hora ZT6 y en el mes de septiembre. El valor de este error nos permite calcular el intervalo de confianza para nuestra muestra en ese punto. Este intervalo va desde los 252 a los 368 segundos.

Cuando calculamos el error para una única predicción de CL que presente los mismos valores en las variables el intervalo va desde los -89 a los 710 segundos. Y esto teniendo en cuenta que hemos escogido la clase más cercana a la media, es decir, la de error estándar más pequeño. Veamos que ocurre si tomamos uno de nuestros experimentos con competición y trato de estimar sus CL. El experimento incluye dos machos de la línea wt ante una hembra wt, uno de ellos sin alas, realizados en septiembre a la hora ZT9. Los valores de CL estimados tienen un intervalo de confianza para el macho alado entre -248 y 563 segundos y entre -65 y 749 segundos para el macho sin alas. Dado el amplio error de la estimación, la probabilidad de que uno de los valores sea menor que el otro fue en casi todos los casos muy cercana al 0,5. Es decir, que la capacidad de pronosticar para un experimento concreto los dos CL no es suficientemente buena como para certificar que un pronóstico vaya a ser mayor que el otro más allá de la diferencia aleatoria. Es por ello que, finalmente, decidimos que no merecía la pena continuar con esta vía de estudio.

Según los resultados obtenidos en esta parte en que hemos tratado de comparar los experimentos con y sin competición, en principio se pueden extraer varias conclusiones.

En primer lugar parece que es la propensión de la hembra a copular lo que más afecta al resultado que se produce en la mayoría de los experimentos en que dos machos, iguales o distintos, compiten por aparearse. Desde luego esto dista mucho de certificar que la hembra esté eligiendo

con que macho prefiere copular. Aunque, desde luego, que ella sea la que regula el número de veces que copula es una condición necesaria para que tal elección se dé.

La solución a este problema depende de si, además de que el número total de cópulas dependa de la propensión de la hembra, podemos decir que cada uno de los machos no copula sólo en función de su habilidad. Esto sería una prueba bastante clara de que la hembra escoge. Sin embargo, puesto que carecemos de un método que pronostique fielmente los CL, no sabemos como determinar en una competición en que los machos son diferentes en que casos, si ella no elige, debe copular uno o el otro. Es decir, no tenemos el modo de calcular en que porcentaje copularía cada macho si sólo dependiera de su habilidad y, por tanto, no podemos contrastarlo con la realidad. Probablemente la solución esté en mejorar de algún modo el modelo que estima los CL.

DISCUSIÓN

Es muy evidente que entre los objetivos que nos propusimos al comenzar este trabajo, que aparecen recogidos en la introducción, y el resultado final del mismo hay notables diferencias. Nuestra intención era examinar la influencia de los genes en la elección de pareja. Y, sin embargo, apenas si podemos garantizar que tal elección se produzca. Parece indicado, entonces, comenzar la discusión de los resultados tratando de justificar el abismo que media entre los objetivos planteados y los resultados obtenidos.

La intención inicial del trabajo era realizar una mutagénesis que nos hubiera permitido aislar mutaciones que causen en las hembras variaciones en su capacidad de elegir pareja. Esto nos obligó a hacernos, previamente, dos preguntas. La primera de ellas se refiere a si conocíamos alguna característica de los machos que garantizase su éxito reproductivo en un porcentaje razonable de ocasiones, suficientes como para que la variación de interés que se pudiese producir en una hembra mutante fuese registrable.

La segunda pregunta cuestiona si podemos afirmar con certeza que las hembras eligen. Nos referimos a elegir en el sentido al que lo hicimos en la introducción, es decir, cuando la hembra voluntariamente escoge a un macho y no a otro. Lo que es muy diferente a que, por las dificultades que entraña llegar a copular, haya una selección (en cierto sentido “involuntaria”) de los machos que logran hacerlo. Distinguir una situación de la otra, como veremos, no es sencillo.

Para que se dé una u otra se tienen que producir apareamientos selectivos, es decir, que machos con una característica dada copulen en mayor o menor frecuencia que machos sin dicha característica. Que en el género *Drosophila* existe apareamiento selectivo está más que probado. Pero que se produzca debido a selección por parte de la hembra, una selección que, como decimos, exija la participación del sistema nervioso (y no una mera consecuencia de las dificultades que entraña aparearse), no está tan claro. Nuestros esfuerzos se han enfocado en probar que, cuando estos apareamientos selectivos se producen se debe a una decisión que toma la hembra, más allá de las diferentes capacidades de seducción de los machos.

Evidentemente la primera parte del trabajo, en la que tratamos de corroborar que las hembras prefieren copular con machos que presentan alguna característica distintiva (el tamaño), aspiraba a resolver la primera de estas cuestiones previas. Y la segunda parte es, asimismo, un intento de dar respuesta a la segunda de estas preguntas. Sin embargo los resultados de los experimentos obtenidos en cada una de estas partes también permiten atisbar conclusiones referidas a la cuestión para la que no fueron inicialmente concebidos.

5.1- Buscando una característica preferida por las hembras que nos permita realizar una mutagénesis

Varias son las opciones, de entre las descritas en la bibliografía, que podían haber servido como característica para incrementar el atractivo de los machos. En los insectos tienen efectos sobre el éxito reproductivo del macho variables como su tamaño, su simetría bilateral, su capacidad de ejecutar adecuadamente el ritual de cortejo, su perfil feromonal o su fondo genético. ¿Por qué, entonces, escogimos el tamaño?

En primer lugar descartamos buscar las hembras mutantes para la elección en base a errores al elegir un perfil feromonal porque esta característica está ligada a la identificación de sexo y especie entre los animales más que a su mayor atractivo. Emplear esta característica nos hubiera permitido identificar hembras mutantes con problemas para distinguir entre machos de *D. melanogaster* y machos de otra especie o entre machos y hembras.

Descartamos estudiar la simetría bilateral por cuestiones metodológicas. Medir la FA (Fluctuating asymmetry, que se traduce correctamente como “asimetría que fluctúa”) implica la recogida de ambas alas, en buen estado, de cada macho. Lo que dobla las posibilidades de tener que descartar experimentos por falta de datos. Además el estudio estadístico de la FA es complicado de abordar (Swaddle y col. 1994; Pomory 1997; Gangestad y Thornhill 1998).

Respecto a emplear machos incapacitados o con algún marcador genético pensamos, en un primer momento, que estas características más que ser o no ser elegidas por la hembra afectaban al propio macho (la primera de ellas, desde luego) para ejecutar correctamente el ritual de cortejo.

No deja de ser una contradicción que en la segunda parte de los resultados empleásemos machos afectados en este sentido para tratar de demostrar que la hembra elige. Pero es que en esta primera parte buscamos machos que tiendan a ser elegidos, siendo, en principio, todos ellos más o menos igual de capaces en lograr copular. Mientras que en la segunda parte tratamos de ver si la hembra variaba su tendencia a copular con machos diferentes cuando éstos competían en relación a algo distinto a las capacidades de los propios machos para inducir la cópula. Es decir, para hacer la mutagénesis no sirve que ella deje de elegir al macho mutante porque probablemente este macho no suele copular no por no ser elegido, sino principalmente por estar algo incapacitado. Sin embargo podemos deducir, en parte, que la hembra es capaz de elegir si, en ciertas circunstancias, copula con machos marcados de algún modo en una proporción distinta a la que lo suele hacer en función de las capacidades (más o menos reducidas) de éste.

Nos queda, por lo tanto, como característica que puede hacer atractivo al macho su tamaño. Sin embargo no es una variable exenta de problemas a la hora de desarrollar el estudio.

En los estudios preexistentes, tal como expusimos en la introducción, hay muchos más indicios de que la talla del macho de *D. melanogaster* es significativa a la hora de mejorar su éxito reproductivo que de lo contrario. Los machos grandes suelen tener más éxito independientemente de si esa ventaja se produce porque salen victoriosos en competiciones intrasexuales, por mayor capacidad de seducción de las hembras o por el tema que nos ocupa, esto es, que la hembra tienda a elegirlos.

Sin embargo hay datos que permiten albergar la duda de que tal ventaja se produzca siempre, principalmente en estudios realizados con otras especies del género *Drosophila* (un resumen en Markow y col. 1996), pero también en la especie que nos ocupa. Pensamos que no debíamos hacer caso omiso a estas dudas y, antes de comenzar la búsqueda de la base genética subyacente a la elección, comprobar si tal ventaja se produce y en qué circunstancias. Además las condiciones experimentales en que existe esta ventaja nos pueden dar indicios sobre si los machos de mayor tamaño son más competentes o son elegidos.

Muchos de los experimentos donde se muestra que tener mayor tamaño no garantiza el éxito reproductivo no estaban enfocados a investigar la posible ventaja reproductiva que confiere tener mayor talla. Sin embargo, a raíz de los resultados de algunos de ellos, queda claro que ser grande no resulta siempre tan interesante, entrando parcialmente en contradicción con lo demostrado en otros artículos.

5.2- Cómo elaborar los experimentos para buscar hembras que no prefieran machos grandes

Que un mayor tamaño del macho es una característica que favorece su éxito reproductivo se ha evaluado en experimentos que, normalmente, caen bajo dos formatos de estudio. El primero de ellos es la observación directa del comportamiento de los animales (como p ej en Partridge y Farquhar 1983; Ewing y Ewing 1984; Partridge, Ewing y Chandler 1987; Scott 1994). Normalmente estos experimentos se realizan en un espacio pequeño, la cámara de cortejo, para facilitar que se produzca el contacto entre los individuos y se prolongan un periodo de observación normalmente breve. El modo de certificar que tal elección se produce es la observación directa del comportamiento de la hembra.

El problema que presenta este tipo de experimentos es en relación con la necesidad de observar a los animales. Eso exige una gran cantidad de tiempo y causa, adicionalmente, que las condiciones en que se realizan los experimentos no sean perfectamente idénticas (puesto que, al

realizarse sucesivamente, varía tanto la hora como la fecha en que se realiza cada experimento). Esto es muy importante, dado que estos factores influyen poderosamente en la actividad sexual de las moscas. A cambio la observación directa permite certificar qué individuos copulan. Y, además, observar si el distinto interés que muestra la hembra responde a algún factor ajeno a la elección, como, por ejemplo, que un macho dado no participe en el cortejo o se vea relegado por su incapacidad.

Hay una segunda opción, que consiste en ubicar a las moscas en un espacio más amplio, normalmente un tubo de cultivo. Las moscas permanecen juntas durante más tiempo y se analiza qué animales copularon estudiando la descendencia que deja cada hembra (Long y col. 1980; Gromko y Gerhart 1984; Sharp 1984; Wilkinson 1987; Harshman y Prout 1994; Reeve y col. 2000). Entre sus virtudes está, además de que permite realizar gran cantidad de experimentos simultáneamente y en condiciones muy homogéneas, que la hembra está en un entorno similar a sus condiciones de vida en el laboratorio. A cambio analizar la descendencia acarrea ciertos problemas. Primero, que la ausencia de descendencia no sólo se debe a que no se diera cópula. Segundo que la presencia de descendientes de uno de los machos no garantiza que únicamente ese macho copulase (por ejemplo a causa del desplazamiento del esperma, ver p. ej. Clark y col. 1995). Y, por último, en los experimentos en que el macho presenta un marcaje genético que permite identificar su descendencia, este marcaje es un factor adicional, además de su talla, que afecta a sus posibilidades de llegar a copular. De hecho, en nuestro caso, dicho marcaje es determinante. Desde luego, puede trabajarse con machos no marcados empleando simplemente el tamaño. Pero esto también presenta problemas por lo fuertemente influida que está la talla por factores ambientales (Wilkinson 1987). Aún así esta característica morfológica presenta un cierto componente hereditario (Coyne y Beecham 1987).

Ambos formatos permiten la realización de una mutagénesis para buscar hembras que no suelen copular con machos grandes. A nosotros, en principio, nos pareció más interesante la segunda aproximación, pese a sus pegas, porque el número de experimentos que se puede realizar en condiciones homogéneas es muchísimo mayor. Y eso es crucial a la hora de analizar el resultado de una mutagénesis. A cambio teníamos que lograr que el marcaje genético del macho afectase lo menos posible.

En cualquier caso, antes de optar por uno u otro método a la hora de hacer una mutagénesis probamos en cual de ellos suelen copular los machos de mayor tamaño, al menos en un porcentaje alto de las ocasiones.

5.3- En qué circunstancias no se certifica que copule preferente el macho de mayor tamaño

A continuación hacemos una pequeña revisión bibliográfica de las situaciones en que se cuestiona la vinculación unívoca de tamaño del macho con su éxito reproductivo encontramos que ésta se pone en duda en todo tipo de situaciones. Desde luego nuestra intención no es poner en duda que tal ventaja existe, sino, más bien, asegurarnos las condiciones que garantizan que se produzca.

De los trabajos que matizan esta ventaja son los realizados en campo quizá los más interesantes por referirse a moscas realmente silvestres y, por tanto, sin ninguna clase de duda acerca del efecto de las condiciones experimentales. También se produce en experimentos realizados en tubos y en cámara de cortejo, muy semejantes a los experimentos que llevamos a cabo. Tampoco se da tal ventaja en otra serie de situaciones que detallamos al final por no tener parecido alguno con nuestros experimentos.

En la primera aproximación hecha al estudio del éxito reproductivo del macho de *D. melanogaster* en campo (Partridge, Hoffmann y Jones 1987) los machos capturados mientras copulaban fueron significativamente mayores que una muestra de machos silvestres cogida al azar. Sin embargo, cuando analizan las tallas de machos capturados en el campo (que habían sido previamente liberados) no hallaron diferencias significativas en tres de las ocho réplicas. En un experimento posterior, en que también se recogieron animales silvestres (Markow 1988) se diferencia entre los animales encontrados en la pulpa de frutas caídas o en la piel. Los machos que se encontraron sobre la piel sí fueron significativamente menores que los encontrados en la pulpa, pero los animales que copulaban (preferentemente en la pulpa) no eran de un tamaño significativamente menor que sus vecinos que no copularon.

En un experimento posterior realizado en el laboratorio (Markow y Sawka 1992) se introducían sucesivamente cinco vírgenes en la cámara de cortejo, de una en una, a cinco machos wt. En este trabajo encontraron que, aunque la media de talla de los machos que copulaban era mayor que la de los que no, era relativamente frecuente (20%) que el macho mayor de los cinco presentes en el experimento no consiguiera copular al término del mismo. De tal modo que, en este caso, no resultó exactamente ventajoso ser el mayor, sino tener una talla por encima de la media, pero no extrema.

La mayoría de los experimentos donde se pone en duda la relación de la talla del macho fueron realizados en tubos, es decir, en las condiciones que en principio nos resultaban preferibles para analizar el comportamiento de las hembras mutagenizadas. Su diseño experimental no es, desde luego, exactamente el mismo que habíamos ideado para realizar la mutagénesis. Aún así son

muchos los caracteres comunes a la situación a que se enfrentarán nuestras moscas y las que se emplearon en estos trabajos.

En un experimento en el que se seleccionan artificialmente líneas que sufren mono y poligamia obligadas (Promislow y col. 1998) encuentran que, en un principio, las líneas donde hay competencia entre machos van teniendo más talla, es decir, hay selección de dicho carácter entre las posibilidades que se le dan a la hembra. Sin embargo, con el paso de las generaciones, este incremento de la talla desapareció.

En un estudio en el que evaluaban qué características del macho y de la hembra facilitaban que éstas mantuviesen segundas cópulas, también realizados en un tubo, encontraron que las hembras que copularon con machos pequeños dejaron más descendencia (Pitnick 1991).

También se estudió en tubos el efecto de la endogamia extrema sobre la capacidad del macho de copular (Sharp 1984). En este estudio se encontró que, además de que esta capacidad se ve seriamente mermada por la endogamia, no hay correlación entre el éxito y el peso de los machos dentro de cada una de las diferentes líneas, ni siquiera en las primeras generaciones.

Dentro de un conjunto de experimentos destinados a calcular las intensidades de la selección sexual y de la selección sobre la viabilidad del organismo (Wilkinson 1987) se realizó un experimento de elección de la hembra basado en paradigmas experimentales de los utilizados para medir tal elección en otras especies (Bakker y Pomiankowski 1995). En este experimento, en que se trataba de medir la intensidad de la elección femenina en función del tiempo que ésta se detenía ante diferentes machos a los que no podía acceder, no se encontró que la hembra se detuviese significativamente más tiempo ante los machos mayores. No podemos negar que esta manera de evaluar el interés de la hembra no parece la más adecuada para estudiarlo en una especie de insectos.

Joshi y col 1999 encuentran que, en condiciones que simulan un cultivo normal de laboratorio, todos los machos del mismo tienen las mismas posibilidades de copular por unidad de tiempo, independientemente de su tamaño. Aducen esta diferencia de su trabajo respecto a estudios anteriores a que, al emplear ellos una densidad larval muy controlada, quizá había muy poca variación en las tallas.

Por último, en un estudio sobre el control de un territorio por un macho encuentran que, pese a que los machos crecidos a 18°C son más grandes, muchas veces son incapaces de controlar un territorio al verse enfrentados a machos de menor talla pero crecidos a 25°C (Zamudio y col, 1995).

Parece claro que la hembra suele tender a copular preferentemente con los machos mayores, pero nos pareció necesario comprobar en qué situaciones es más probable que se de esta ventaja.

Sobre todo en los experimentos que se realizan en un tubo de laboratorio, que es donde se encuentran la mayoría de los resultados que contradicen esta hipótesis.

5.4- En qué condiciones tienen mayor probabilidad de copular los machos mayores

Lo que nuestro trabajo deja claro, aunque es una conclusión bastante previsible, es que el tamaño afecta al éxito reproductivo del macho dependiendo de las circunstancias en que se lleve a cabo el experimento. En nuestro caso ser grande beneficia a los machos en las cámaras de cortejo, al menos en los experimentos en que no hay competencia. Y parece que también copulan más frecuentemente cuando la hembra puede elegir entre varios en una situación en que ella dispone de espacio suficiente para huir. Sin embargo apenas tiene importancia en los experimentos en que introducimos una pareja de machos y una hembra en un tubo. Seguramente porque en ese caso el marcador genético tenía mucho más peso.

En muchas ocasiones se ha mostrado que las circunstancias en que se desarrolla el comportamiento afectan al resultado (revisado en O'Dell 2003). Ewing y Ewing realizando experimentos simultáneamente en dos tipos de cámaras encontraron que el tamaño de la misma afectaba al resultado de los experimentos (Ewing y Ewing 1984) quizá debido a la mayor interacción entre los individuos (Wallace 1990). Nuestros experimentos no pretenden solamente comparar variaciones en el tamaño del recinto donde se estudia el comportamiento, sino que permiten contrastar los resultados de diferentes aproximaciones experimentales.

En el ámbito del estudio del comportamiento es común encontrar que experimentos que siguen los mismos protocolos, o protocolos muy semejantes, pero realizados en diferentes laboratorios obtienen resultados diferentes (Partridge 1980 vs Taylor y col. 1987). También es común que experimentos que indagan en la misma cuestión de fondo pero siguiendo distintos protocolos obtengan resultados en cierto sentido opuestos (Promislow y col. 1998 vs Holland y Rice 1999).

En general se aduce que esos resultados contrapuestos se deben a que las variables no controladas afectan determinantemente al resultado del experimento. Es decir, diferencias sutiles y casi incontrolables como pueden ser fondos genéticos levemente distintos, variaciones en la composición exacta del medio de cultivo de las moscas o incluso factores completamente desconocidos. Todo ello evidencia que, por muy cautos que seamos con las condiciones ambientales, no es posible reproducirlas exactamente. Eso, unido al componente aleatorio que siempre hay que tener en cuenta al trabajar en comportamiento hace difícil realizar experimentos

repetibles y falsables, tal como se exige en las ciencias experimentales. Un modo de minimizar el efecto de estas variaciones descontroladas es realizar los diferentes tipos de experimentos casi simultáneamente, empleando moscas de una misma cepa y crecidas en condiciones idénticas.

En nuestro laboratorio hemos repetido con moscas de una misma estirpe y de generaciones consecutivas varios experimentos evaluando el efecto de la talla del macho sobre su éxito reproductivo. Las tallas de las moscas utilizadas en estos experimentos no son significativamente diferentes y las condiciones de crecimiento y experimentación son lo bastante semejantes para asumir que los resultados son reproducibles y que las diferencias halladas entre los experimentos no son achacables a variables no controladas.

Otra cosa que pone de relieve nuestro trabajo, y que en ningún momento se ha considerado en la bibliografía, es que lo que realmente afecta al éxito reproductivo del macho no es su tamaño, sino su tamaño relativo con respecto al de la hembra. Lógicamente los machos grandes suelen tener un tamaño relativo mayor –con respecto a la hembra- que un macho algo más pequeño. Pero es curioso que, hasta el momento, ningún autor hiciera hincapié en el tamaño de la hembra. La única aproximación en este sentido la hacen Partridge, Ewing y Chandler (1987) que aunque reconocen que no están interesados en el efecto de la talla de las hembras sobre el comportamiento sexual, garantizan que emplearon solamente moscas grandes.

El que la hembra tienda a copular con machos que se le acercan en tamaño ni verifica ni desmiente que ella escoja. Pero sugiere que la elección de machos de un tamaño parecido a ella puede deberse sencillamente a sus semejantes capacidades físicas. Esta semejanza haría que las posibilidades de la hembra de escapar sean menores y, por tanto, resulta más fácil que el macho logre finalmente copular. Es decir, que lo que filtra qué macho logra aparearse no es una reacción de la hembra en que esté implicado su sistema nervioso, sino que se evalúa la bondad de macho en función de su estado físico. Si es capaz de seguir a la hembra en su huida mientras ejecuta el ritual de cortejo, entonces es adecuado como pareja. Ciertos datos tomados de la bibliografía sirven de apoyo a esta hipótesis. Por ejemplo el hecho de que la hembra huya con el mismo ímpetu de todos los machos, independientemente de su talla (Partridge, Ewing y Chandler 1987) apunta a que ella no elige voluntariamente entre uno u otro macho, simplemente los pone a prueba.

Esta posibilidad la hemos tenido presente desde el primer momento que comenzamos este trabajo. Entonces, ¿por qué sospechar a partir de los resultados obtenidos que gana fuerza esta hipótesis como explicación del comportamiento? Pues, simplemente, porque la talla deja de tener importancia en los experimentos en que las capacidades físicas o de cortejo de los machos están más limitadas. Como hemos visto, los machos cv o sin alas en experimentos en cámara o en tubo no

son preferidos, aun teniendo mayor talla que uno wt. Esto nos inclina a pensar que no es que la hembra esté percibiendo defectos mayores en estos machos pese a su mayor talla, sino que estos defectos apuntan a que la selección del macho depende básicamente de su forma física y/o su capacidad de ejecutar correctamente el cortejo. No hay que olvidar que una de las funciones de la canción nupcial es enlentecer el paso de la hembra (von Schilcher, 76b). De ser esta hipótesis cierta, en los machos sin alas el tamaño debe ser más importante que entre los alados. Por desgracia disponemos de pocos experimentos con machos no alados para confirmar o desmentir esta hipótesis.

En cualquier caso, independientemente de si nos inclinamos a atribuir el apareamiento diferencial a uno u otro motivo, reconocemos que el estado actual de nuestro trabajo no nos permite validar ninguna de las hipótesis. Es difícil refutar que en esta selección la hembra procese las señales que emiten los machos para, a continuación, actuar de un modo acorde, pero tampoco es posible demostrarlo como cierto. Solamente el encontrar una hembra mutada que no tienda a copular con el macho mayor manteniendo perfectamente funcionales todas sus capacidades perceptivas y motrices serviría para descartar o confirmar la hipótesis de que la hembra elige.

Destacar los resultados interesantes de nuestro trabajo no debería hacernos perder la perspectiva de nuestra motivación para realizar estos experimentos: no era comparar procedimientos experimentales reduciendo al mínimo las variaciones ambientales normalmente menos controladas ni certificar si la talla del macho es o no relevante para determinar su éxito reproductivo. El objetivo de esta primera parte del trabajo era encontrar un protocolo experimental donde poder, tras mutarlas, buscar hembras que dejan de copular con un macho dado estando seguros de que las moscas normales (wt) no lo hubieran hecho. La característica a ser elegida, en principio, nos era indiferente.

Por desgracia no creemos que podamos dar por cumplido este objetivo. Independientemente de si el éxito reproductivo del macho se vincula directamente a su talla o si lo hace por ser elegido por la hembra, en ninguno de los experimentos que hemos llevado a cabo es el macho más grande el que logra copular mayoritariamente. O, al menos, no de un modo que resulte sencillo evaluar si la mutación o mutaciones seleccionadas están realmente afectando a la capacidad de elegir de la hembra.

En primer lugar podríamos optar por emplear los experimentos realizados en una cámara de apareamiento. En los experimentos en que hay competición no parece que sea el mayor el que suele copular, ni aun cuando la diferencia de tamaño entre ambos es grande. Es cierto que, de entre los machos que finalmente copulan, suelen ser más grandes los que lo hacen al principio del

experimento. Pero este hecho no implica que la hembra tienda a copular con el macho de mayor tamaño de los que se le presentan. Más bien se debe a que las hembras pequeñas tienden a copular antes y, por tanto, el tamaño relativo de los machos que copulan con ellas es más cercano a uno.

En cambio en los experimentos en que hay un único macho es muy claro que los machos grandes tienden a copular más rápidamente. En principio esta ventaja del macho mayor podría servir para buscar hembras que no tiendan a copular con los machos grandes. Sin embargo hemos de hacer una reflexión antes de decidimos a emplear este método como modo de selección de las mutaciones. Si en un experimento en que hay dos machos es difícil afirmar que se produce elección, ante un único macho es imposible discernir si se da tal proceso. Puesto que la hembra no está decidiendo entre copular con uno u otro macho sino, simplemente, decide si copular o no. Desde luego estas dos circunstancias pueden tener un fundamento fisiológico común, pero también es perfectamente posible que no sea así. Por lo cual tampoco parece éste el mejor método para evaluar si se ha mutado la capacidad de elegir de la hembra.

Respecto a los experimentos realizados en tubos de laboratorio vemos que, en general, el efecto de la talla es menor a la hora de discernir qué macho copula que la presencia de una mutación visible en algunos de ellos. Éste es un resultado esperable y se puede aducir al sistema de marcaje que hemos elegido, puesto que muchas moscas con mutaciones viables presentan defectos inesperados en su comportamiento (O'Dell 2003).

Sin embargo, en nuestro planteamiento inicial, este modo de marcar los machos nos pareció el más sensato: los machos que compiten presentan una única diferencia genética y, a la vez, el análisis de la descendencia no es muy laborioso. En principio la mutación que elegimos, *cv2*, no es especialmente perjudicial para el animal. Y, además, la homogenización entre las dos líneas da ciertas garantías de que las principales diferencias entre estas dos líneas residen en esa única mutación puntual. ¿Qué marcador hubiera tenido un efecto más leve?

Una posibilidad que valoramos fue emplear machos que expresasen GFP mediante un sistema GAL4-UAS o, simplemente, uniendo esta secuencia a un promotor de expresión más o menos ubicua. Pero esta aproximación no está exenta de problemas. Y no tanto referidos al empleo de la GFP, sino al uso de moscas transgénicas. En primer lugar emplear cualquier transgen marcado con *mini-white* siempre deja el atisbo de duda sobre si dicho gen estará afectando al comportamiento de las moscas (Zhang y Odenwald 1995; Nilsson y col. 2000). Marcar un transgen con otra copia no mutada de algún gen (p ej *rosy*) sigue implicando utilizar un macho mutante si queremos estar seguros de llevar el transgen, lo que no es diferente de aproximación que nosotros empleamos. Una inserción puntual que no esté marcada con una copia +, sino con alguna actividad

enzimática adicional presenta, además de la posibilidad de que esto afecte al comportamiento, la complicación de evaluar la descendencia.

La otra opción hubiera sido emplear otra mutación que estemos seguros de que no afecta al comportamiento ni del macho ni de la hembra. Y, aunque evidentemente esto es factible, no está claro cuales son los criterios a seguir *a priori* para seleccionar esta mutación y que no coincidan con los aplicados a *cv2*: una mutación viable con moscas aparentemente sanas y que no se exprese en el sistema nervioso, en el locomotor o en los órganos de los sentidos.

Por último en el tercer tipo de experimentos que realizamos, sometiendo a la hembra a monogamia obligada o dándole opción de copular con diferentes machos, queda bastante claro que una hembra tiende a aparearse con machos de mayor tamaño.

Emplear este procedimiento experimental para seleccionar hembras mutantes no está exento de problemas, referidos sobre todo a la heredabilidad del tamaño. Porque, aunque la correlación entre talla de los progenitores y su descendencia existe (Wilkinson 1987), la genética de los padres no es muy determinante para la talla final de los animales. En nuestros experimentos hemos podido comprobar que la mayor talla de la descendencia no es exclusivamente debida a que los padres fueran de mayor tamaño, dado que en todos los experimentos la talla de la descendencia fue mayor que la de los progenitores. Es por ello necesario que para cada mutación que queramos comprobar en el experimento se incluyan, además de hembras mutantes, algunas hembras que actúen como control dentro del mismo experimento. Todo esto implica la necesidad de emplear más de una hembra mutante. Lo que nos lleva a tener que establecer líneas para conseguir cultivos de moscas que porten todas ellas la mutación a estudiar. Tendremos, entonces, que establecer una línea con cada una de las mutaciones a ser contrastadas.

Otro problema para hacer experimentos de selección de hembras que no elijan con este paradigma es que no sabremos qué ha elegido la hembra hasta tener cortadas y medidas las alas de la descendencia de estas hembras y de las hembras control. El procedimiento de análisis de la descendencia, por tanto, es más complicado y laborioso que si empleásemos machos marcados.

Este sistema de trabajo complica el análisis de un número elevado de mutaciones generadas aleatoriamente. Aún así, es potencialmente un sistema de trabajo útil para encontrar las bases genéticas de la elección de pareja en *D. melanogaster*.

5.4.1- Experimentos en una cámara de cortejo

Dos cosas distinguen a las cámaras donde realizamos todos los experimentos que se analizan en la segunda parte de los resultados y en buena parte de la primera de las que emplean otros

investigadores. En primer lugar, a fin de favorecer la cópula (Lichtenberger y col. 1989), el fondo de la cámara de cortejo esta cubierto de zumo de frutas solidificado con agar. Esto puede dar en cierta medida cuenta de los elevados CL y MF registrados, en comparación con los que obtienen otros autores.

La otra diferencia es que es algo más grande que la mayoría de las cámaras de apareamiento descritas en la bibliografía. Básicamente porque queríamos evitar, en la medida de lo posible, que a la hembra le fuese totalmente imposible huir. La cámara no tiene el tamaño suficiente como para que la hembra pueda escapar volando, que parece ser su modo más eficaz para evitar la cópula, pero sí el suficiente como para mantenerse bastante alejada de el o los machos. Son razones parecidas a las que esgrimen otros autores (Partridge, Ewing y Chandler 1987) que utilizaron cámaras de un tamaño parecido (en realidad las nuestras son incluso algo más pequeñas, 34 frente a 38 mm de diámetro).

Aún así las posibilidades de la hembra de escapar de su o sus perseguidores fueron mínimas. El cortejo comenzó en casi todas las ocasiones apenas introducido el/los macho/s y las hembras fueron sometidas a una persecución constante. Tal como enuncian muchos autores (Ewing y Ewing 1984; Sakai e Ishida 2001a y b) los machos no cejan sus intentos de aparearse con la hembra prácticamente en ningún momento. Dicha persecución durante los 15 minutos de duración de los experimentos casi siempre concluyó con la cópula, independientemente de la talla de las moscas utilizadas.

A este respecto, tal como le ocurre a otros autores (Casares y col. 1992; Casares y col. 1998) comprobamos que el mantener las moscas juntas demasiado tiempo tiene como consecuencia que, al final del periodo de observación, se ha producido la cópula en casi todos los experimentos. Este hecho complica todas las posibles comparaciones entre las moscas que llegan a copular y las que no, pues el número de éstas es muy reducido y, además, los motivos para que no lo hayan hecho probablemente son debidos a causas ajenas a la selección de pareja. Por ello es preferible y, de hecho los resultados son mucho más interesantes, cuando se considera qué hubiese ocurrido de durar menos los experimentos. En nuestro caso es posible hacer esta corrección puesto que la actividad de las moscas se registró de continuo y conocemos el momento exacto en que se dio la cópula.

Como conclusión considerar que la duración que le demos al experimento determina en gran medida nuestra capacidad para comparar el diferente éxito de los participantes, tal como ratifican muchos autores (Casares y col. 1992; Markow y Sawka 1992; Scott 1994). En principio para muchos de ellos un límite temporal de media hora es adecuado. Sin embargo en nuestro caso, que tanto las frecuencias de cópula como el tiempo hasta la cópula son mayores, nuestro periodo de observación (15 minutos) resultó casi excesivo.

Consideremos en primer lugar los experimentos en que utilizamos un solo macho. En ellos encontramos que a lo largo del experimento los grupos de parejas en que ya se había producido la cópula presentan tallas de macho y hembra más parecidas (esto es, el cociente macho/hembra era más cercano a 1) que en los grupos que incluyen los experimentos en que no se había dado aún el apareamiento. Si atendemos a si este efecto es más deudor de variaciones en la talla del macho o de la hembra encontramos que, en casi todos los puntos de análisis las hembras que ya han copulado tienden a ser menores. En muchos puntos, además, los machos que han copulado, tienden a ser mayores. Ambos fenómenos convergen y causan que sean los machos de talla relativa cercana a uno los que tiendan a copular primero, pero no olvidemos que buena parte de este efecto se debe a la menor talla de las hembras. Esto ocurre, curiosamente, aunque ni las tallas ni su cociente correlacionan con el CL.

Es interesante considerar que la diferencia de talla media entre estos dos bloques (que incluyen a los animales que en un momento dado ya han copulado y los que no) es significativa en la mayoría de los puntos de análisis, excepto en aquellos más extremos (es decir, no hay diferencias al principio y al final del experimento). En parte esto es debido al pequeño número de experimentos que engloba uno de los dos bloques en esos momentos. Además de esto, el que no encontremos diferencias entre estos dos bloques al final del periodo de observación posiblemente se deba a que, puesto que finalmente en casi todos los experimentos se copula, no podemos apreciar si ha habido una selección. Respecto a que no haya diferencias en el primer punto de análisis hay que tener en cuenta que en esos casos la cópula siguió casi inmediatamente a la introducción de la hembra, con lo cual apenas hay posibilidad de que se diera selección de ningún tipo.

La ventaja del macho más grande coincide en gran medida con lo descrito en la bibliografía. En principio los machos mayores suelen copular más rápidamente (Partridge y Farquhar 1983), aunque estas mediciones fueron realizadas en tubo y a lo largo de toda la vida del macho. No hay experimentos en cámara de cortejo donde se mida el éxito reproductivo del macho como MF o CL, pero se atestigua la ventaja de los machos grandes (Partridge, Ewing y Chandler 1987) porque éstos con capaces de cortejar durante más tiempo, posiblemente debido a su mejor estado físico.

Según nuestros resultados podemos afirmar, entonces, que en experimentos realizados en cámara de cortejo y cuando no hay competición parece que los machos de talla parecida a la hembra tienen más éxito (al menos si nos ceñimos a MF).

En contraposición a esto hallamos que en los experimentos en que introducíamos dos machos no era el macho de mayor tamaño de los dos introducidos el que había copulado al final de los experimentos. O, al menos, no eran diferentes las medias de las tallas de los machos que

copularon y de los que no. Ser grande no garantizó copular, ni siquiera cuando sólo nos ceñimos a las diferencias de tallas más extremas.

Este punto nos va a permitir elucubrar acerca de una circunstancia que se da en el análisis de estos resultados, pero también en otros análisis a lo largo de este trabajo. Y es la aparente contradicción a la que llegan diferentes métodos estadísticos de analizar los resultados.

Tal y como acabamos de enunciar la talla media de los machos que copularon no era diferente de la de los machos con los que competían y no lograron hacerlo. Sin embargo mediante la ecuación logística que generamos empleando estos experimentos encontramos que sí resulta significativa la diferencia de talla entre los machos para que se dé la cópula, además de su interacción con la hora y con la talla de la hembra. ¿Por qué los dos análisis nos dicen cosas relativamente diferentes?

Lo primero es darnos cuenta de que el segundo análisis, la regresión logística, tiene en cuenta varias variables, de modo que se puede apreciar el efecto que produce la interacción entre ellas. Es decir, si tenemos en cuenta la talla de la hembra además de la del macho, encontramos que ante hembras grandes ser el macho grande dificulta la cópula, mientras que ante hembras pequeñas el ser el macho grande favorece la cópula (**tabla 2.6**).

Por otro lado hay que tener en cuenta como funcionan estos modelos. El que la variable sea significativa no dice más que el coeficiente que se calcula para ella es significativamente diferente de cero, es decir, que esa variable tiene importancia a la hora de facilitar que un evento se produzca (o que no se produzca). Sin embargo esto no nos da idea de en qué medida el modelo generado (en el que, efectivamente, el coeficiente de la variable no es cero) se ajusta a la realidad. Más allá de que se ajuste significativamente (esto es, que pronostique mejor un resultado que el azar) es importante ver en qué medida se ajusta. Esta noción nos la da la cercanía del -2LogLikelihood al cero. Pero puesto que esta medida no es muy intuitiva, hay otros modos de evaluar la bondad del ajuste. El que hemos referido nosotros es el porcentaje de pronósticos acertados, comparándolo siempre con el modelo nulo. En general las regresiones logísticas generadas no han tenido un buen ajuste. Eso no quiere decir que los resultados y las conclusiones obtenidos mediante ellas no haya que tomarlas en consideración. Más bien que las tomemos en cuenta con las precauciones necesarias.

Volviendo a cómo interpretar nuestros resultados, podemos afirmar que no es mayor el macho que tiende a copular cuando dos compiten. Es verdad que la diferencia de las tallas de un macho con su adversario tiene cierto efecto (matizado por las otras variables) a tener en cuenta, pero no determina el resultado final.

En cualquier caso no podríamos afirmar la proporcionalidad entre la talla de los machos que compiten y el número de cópulas que consuman, como afirman Partridge y Farquhar. En su artículo

(Partridge y Farquhar 1983) afirman que los machos grandes consuman mayor número de cópulas, siendo este incremento proporcional a la diferencia de tamaño entre los machos que competían. Desde luego no podemos confirmar ni contradecir esta afirmación con nuestros resultados, puesto que los protocolos experimentales son muy diferentes. Nosotros podemos hacer cálculos de esta índole solamente en los experimentos con competición hechos en la cámara de cortejo, mientras que todos sus experimentos se realizaron en tubos, ante varias hembras y, sobre todo, realizando medidas repetidas para un mismo macho. Aunque sus resultados y los nuestros no apuntan en la misma dirección, las diferencias de procedimiento son tantas que las posibles conclusiones son difícilmente comparables.

Hay un segundo resultado de estos experimentos que merece la pena considerar. En estos experimentos, tal y como ocurrió cuando no había competición, tienden a copular primero las hembras de menor tamaño. Es decir, cuando los dos machos compiten no está claro cual de los dos llegará a copular, pero haya o no competición suelen copular antes las hembras de menor tamaño (ver **Tabla 2.7**). Aunque debemos matizar que este efecto se produce solamente en dos de los cinco (el primero y el tercero) puntos intermedios de análisis.

Esto se confirma en el análisis del CL cuando consideramos varias variables. No podemos decantarnos por ninguno de los modelos que probamos, pues todos presentan un R^2 parecido, pero está claro que todas las variables, incluyendo la diferencia de talla de los machos y la talla de la hembra, tienen un cierto efecto sobre el CL cuando se controla el valor de las otras. Sin embargo son las variables no relacionadas con características de las moscas (hora y tanda) las que tienen más peso, aunque la talla de la hembra resulta relevante en muchas de las aproximaciones (**Tabla 2.12**). Aún así, quizá sea exagerado concluir que la talla de la hembra tiene un efecto claro sobre el CL.

Retomemos el debate sobre si la hembra elige activamente el macho con el que copula o bien la selección simplemente el resultado de la prueba a la que ella los somete. Desde luego, el que la talla de la hembra tenga un efecto relevante no confirma ni desmiente ninguna de las hipótesis. Pero mantienen abierta la posibilidad de que la elección por parte de la hembra podría no ser muy relevante. Nos inclinamos a pensar que, al menos en estos experimentos, es la diferencia en la forma física de la hembra y el o los machos lo que define cuándo se copula y quién lo logra.

Por último comentar el efecto que tiene sobre la cópula el hecho de que haya dos machos en estos experimentos, teniendo en cuenta siempre la variable de interés (el tamaño de las moscas). En

principio la competición hace que la hembra copule más frecuentemente. Sin embargo la cópula no se produce antes, es decir, no se reduce el CL. Esto viene a confirmar observaciones realizadas por otros autores (Ewing y Ewing 1984) en que doblar el número de machos (de dos a cuatro) no afectaba al tiempo hasta la cópula. Resultados equivalentes se observan cuando analizamos el total de los experimentos en cámara de apareamiento en que machos y hembras son wt (Figura 7.1).

Empleando el análisis de supervivencia encontramos un resultado relevante adicional. Y es que los resultados son muy parecidos (en lo referente a supervivencia, es decir, a la probabilidad de copular en función del tiempo) entre experimentos en que interviene un solo macho, pero de tamaño semejante al de la hembra, y dos machos (cualquiera que sea su tamaño). Esto, en cierto sentido, matiza nuestra anterior afirmación. Parece, pues, que un macho relativamente grande es capaz de fomentar que la hembra copule tanto como dos. Si comparamos los resultados obtenidos cuando se considera la talla relativa o la absoluta de los machos vemos que, de nuevo, el considerar la talla de la hembra es lo que causa las diferencias. Son las hembras grandes ante un único macho las que más se resisten a copular. O, lo que es lo mismo, los machos de talla relativa pequeña tienen dificultades para llegar a cruzarse. La presencia de un único macho de gran tamaño o de dos no ofrece resultados diferentes, confirmando que es la propensión a copular de la hembra la que pone límite al número de cópulas que se producen. Una segunda lectura que podemos hacer es que un macho de tamaño parecido a la hembra fomenta que ésta copule al mismo nivel que lo logran dos machos, de modo que, en cierto sentido, podemos considerar que son capaces de inducir la cópula hasta el límite máximo, que es la propensión a copular de la hembra

Es muy importante que, antes de extraer ninguna conclusión, tengamos en cuenta la peculiaridad del análisis de supervivencia. En este análisis no se considera que el evento pueda no producirse (en nuestro caso, la cópula), sino que asume que, si no se indica que el evento se ha producido es porque no se ha dado dentro del periodo de observación. Pero en el cálculo de la probabilidad acumulada se asume que el evento ha de producirse en algún momento.

De nuevo nos encontramos con conclusiones algo contradictorias. Sin embargo en nuestra opinión es indudablemente cierto que el aumento en el número de machos que participan suele causar un aumento en la MF. El aumento es mucho más notable si la hembra es de gran tamaño, pero en todos los casos se produce dicho aumento (**figura 3.2**).

No hay experimentos iguales a éstos recogidos en la bibliografía, pero podemos comparar nuestros resultados con los obtenidos por Friberg y Arnqvist (2003). Nuestros resultados y los suyos arrojan, en cierto sentido, conclusiones casi contrapuestas puesto que para ellos emplear dos machos en lugar de uno no incrementa la frecuencia de cópula. En todos nuestros experimentos

realizados en una cámara, incluyendo aquellos en que empleamos machos mutantes o sin alas, el incremento del número de machos siempre acarrea un aumento de la frecuencia de cópula. Por otro lado sí coinciden en que los machos grandes obtienen mayor número de cópulas.

De nuevo hemos de tener en cuenta que el diseño del experimento es muy distinto, sobre todo porque ellos observaban las parejas de moscas a lo largo de toda su vida. De modo que a lo que se refieren en realidad es a la capacidad de los machos de conseguir copular de nuevo con una hembra que no es virgen. Ellos analizan si tanto la talla de los machos como la densidad afecta a esta capacidad. Pero mientras que los machos de mayor tamaño obtienen mayor frecuencia de cópula, la presencia de dos machos aumenta la cantidad de cortejo que recibe la hembra, pero no aumenta su frecuencia de cópula. Desde luego cabe plantearse si ambas situaciones, el lograr copular con una hembra virgen o con una que ya se ha cruzado, dependen de las mismas habilidades y circunstancias. En principio las hembras que han copulado recientemente son muy renuentes a hacerlo de nuevo (revisado en Wolfner 2002), por lo que los esfuerzos de estos machos han de multiplicarse para lograrlo. No podemos descartar que, quizá, los machos que son exitosos ante una hembra no virgen lo serían igualmente ante una virgen (Pitnick 1991; Sgrò y col. 1998). Lo cual no implica que el efecto sobre la frecuencia de cópula de una hembra no virgen de dos machos se parezca al que se observa cuando la hembra es virgen. Además hay que tener en cuenta que en sus experimentos no hay límite de tiempo para lograr copular y, al realizarse en tubo, las posibilidades de la hembra de huir son muy distintas.

5.4.2- Experimentos con machos de dos líneas realizados en tubos

Estos experimentos eran, en principio y de funcionar bien las cosas, nuestros favoritos para organizar una mutagénesis. Las ventajas que ofrecen son muchas: se puede realizar un gran número de experimentos simultáneamente, es muy sencillo interpretar cual de los dos machos logró copular y no es necesario observarlos continuamente. Sin embargo emplearlos no parece viable dado que, en líneas generales, se puede decir que influye más en los resultados obtenidos el genotipo del animal que su talla. Aun así en los experimentos de 4 días a 18°C la talla presenta una cierta relevancia, pudiendo usarlos como protocolo para el análisis del comportamiento de hembras mutagenizadas.

Otra posible solución es buscar un modo de identificar qué descendencia pertenece a cada macho que afecte al comportamiento en menor medida. Sin embargo estamos seguros que todas las posibles aproximaciones a un marcaje genético tropezarán con problemas semejantes.

En primer lugar nos referiremos al efecto de la talla de machos y hembras sobre el que se dé la cópula, para posteriormente centrarnos en analizar qué factores hacen a un macho más atractivo.

El efecto sobre la frecuencia de cópula de la hembra de diferentes variables lo analizamos solamente en los experimentos realizados a 25°C. En principio parece, de nuevo, que ni el tamaño de los machos ni el de la hembra tienen relevancia para determinar que se produzca la cópula (tabla 4.5). Pero de nuevo un análisis que nos permita incluir varias variables modifica esta percepción. Parece que fomenta la cópula que la hembra sea de pequeño tamaño (salvo cuando es muy pequeña) y, además, que el macho cv sea grande tiende a complicar la cópula. ¿Por qué afecta el tamaño relativo del macho cv, y no del wt que, a la postre, es el que suele copular en estos experimentos a 25°C? Quizá porque sólo si el macho cv es suficientemente grande puede participar en los cortejos y competir con el macho wt. Tal como enunciaron Ewing y Ewing (1984) en los experimentos en que los animales disponen de mucho espacio el cortejo no se da de un modo continuo, sino que es constantemente interrumpido por las huidas de la hembra. La limitación de tiempo (1 día) hizo que fuera relativamente probable que la hembra evitase a ambos contendientes hasta la conclusión del experimento. Sólo el macho más eficaz, el wt, encontró a la hembra las suficientes veces como para completar todo el ritual de cortejo. De entre los machos cv sólo los de mayor tamaño pudieron intervenir en dichos cortejos y su efecto fue, bien por la competición entre los machos o bien por complicar la elección de la hembra, reducir el número final de cópulas.

De nuevo el modelo no es muy significativo ni su capacidad de pronóstico excesivamente buena. Dada la poca precisión en la regresión, quizá sea preferible asumir que ninguna de las variables modifica la probabilidad de que se dé la cópula, aunque tendremos en cuenta lo que sugiere el modelo. Que, por otro lado, no es diferente de las conclusiones que venimos extrayendo hasta ahora: el que la talla de la hembra es lo que en mayor medida limita el número de cópulas que se producen. Sin embargo, al contrario que en los experimentos realizados en cámara, el efecto de la talla de la hembra no es, en este caso, muy significativo.

¿Por qué no hemos valorado, en este sentido, los experimentos realizados a 18°C? ¿No podría igualmente la talla de la hembra limitar el número de cópulas? Desde luego al alargar el tiempo de convivencia, aun haciendo que disminuyera la actividad metabólica, hicimos que aumentase el número de encuentros al azar entre machos y hembra, independientemente de sus tallas. Esto es debido a que, aunque la baja actividad metabólica afecta a todas las funciones del animal, volar se ve más afectado que caminar (Lehmann 1999; Dillon y Frazier 2006). Que hubiera más encuentros aleatorios fomentó que finalmente casi todas las hembras copularan. Que haya pocos casos en que las hembras no se apareen dificulta que podamos estimar la importancia de la talla en este caso.

Respecto a las variables que favorecen que uno de los dos machos logre copular, es bastante claro que es el wt el que suele copular, casi con independencia de su talla. En los experimentos a 25°C la ventaja que confiere el ser wt no tiene ningún paliativo. En los experimentos a 18°C el macho cv tiene alguna oportunidad, pero sólo si su talla es muy superior a la del macho wt. Cuando ambos machos tienen una talla semejante es el wt el que consigue copular. Cuando a través de una regresión logística analizamos el efecto de todas las posibles variables simultáneamente confirmamos que lo realmente relevante para que un macho logre copular en estos experimentos es su genotipo.

Es importante notar que en los experimentos realizados a 18°C la talla de los machos wt es significativamente menor y, además, la varianza es mayor. Es decir, la cantidad de machos wt pequeños es mucho mayor en estos experimentos, de modo que la diferencia de talla entre los dos machos es menor que en los realizados a 25°C. Esto complica el poder comparar ambas condiciones sin tener en cuenta esta diferencia. De hecho los resultados que obtenemos al considerar el conjunto de experimentos realizados a 18°C son, en buena medida, debidos a los resultados en la segunda tanda. En esta segunda tanda el tamaño de los machos wt es el menor de los registrados y la varianza la mayor. Esto permite que se dé el resultado que se observa en la **figura 4.5** en que los machos wt que logran copular son solamente aquellos que presentaron una talla parecida a la de los machos wt del resto de las tandas.

Obviando, en la medida de lo posible, esta diferencia en la talla media podemos buscar las diferencias entre una condición y otra que pudieran dar cuenta de los resultados. El aumento de frecuencia de cópula de los machos cv es ajeno a los mínimos tamaños de los machos wt de la segunda tanda, pues aun descartando ésta los porcentajes de cópula a 18°C de los machos cv son mayores que a 25°C (**Tabla 4.7**). ¿Qué puede favorecer en un experimento que dura más tiempo y a menor temperatura el que copulen los machos cv?

Para explicarlo también debemos tener en cuenta otra diferencia importante entre ambas condiciones. Nos referimos al aumento de experimentos en que se da la cópula, pasando del 55% a 25°C al 93% a 18°C. También aumentó muy significativamente el número de experimentos en que ambos machos copularon.

Estos incrementos probablemente son consecuencia del aumento del tiempo que hembras y machos permanecen juntos pues, en general, aumentará el número de ocasiones en que los machos y la hembra se encontrarán por azar en el tubo. Además al disminuir la temperatura se reduce la actividad de los animales, lo que hace que los encuentros sean más fortuitos, dependiendo menos de la búsqueda activa por parte del macho.

Es importante tener en cuenta que a 18°C desciende más la capacidad de volar que la de caminar (Lehmann 1999; Gibert y col. 2001; Dillon y Frazier 2006). Esta dificultad para volar hace que las hembras dispongan de menos recursos para huir del macho (Ewing y Ewing 1984).

En definitiva, disminuir la actividad aumentará el tiempo que transcurra hasta que, por azar, un macho y la hembra se encuentren. Aumentar el periodo de tiempo hasta el encuentro favorece que los machos cv, con unas capacidades físicas algo limitadas, tengan más probabilidades de encontrarse con la hembra (y traten de cortejarla) cuando aún no ha sido fecundada. Esto hace que sólo los machos wt más eficaces, es decir, los de mayor tamaño, se sobrepongan a la dificultad adicional que representa el descenso en la temperatura para localizar y copular con la hembra.

Esta explicación es válida, pero no es la única posible. Por ejemplo, no queremos desestimar que la hembra, al no verse tan acosada, pueda filtrar mejor con cual de los dos machos prefiere copular. Aunque el aumento del número de segundas cópulas no apoya esta explicación y más bien nos indica que los machos wt son capaces de volver a copular con la hembra aunque ésta ya hubiera sido fecundada por el macho cv.

No es fácil comparar estos resultados con los obtenidos en cámaras de cortejo controlando las tallas, tanto por las evidentes diferencias de diseño del experimento como por el empleo de moscas mutantes que afecta en tal medida a los resultados que no tiene demasiado sentido comparar el diferente efecto de la talla en las dos situaciones. Aun así podemos fijarnos en algunos detalles de interés.

En primer lugar podemos afirmar que la frecuencia de cópula de la hembra en estos experimentos es algo inferior, pues en los experimentos con competición en la cámara el 100% de las hembras copuló mientras que en éstos estando 24 horas a 25°C el número de cópulas se acerca al 55%. Este porcentaje es incluso menor que el obtenido cuando en la cámara introdujimos un único macho wt (85%). Muchos son los factores que pueden dar cuenta de este resultado, como por ejemplo el que la hembra en estos experimentos sea cv. Sin embargo nos parece más plausible pensar que esta frecuencia relativamente baja de cópulas se debe a haber dado a la hembra más facilidades para huir. E incide en que, cuando las hembras pueden escapar volado, el cortejo no es un proceso continuado, sino constantemente interrumpido.

En este mismo sentido, la talla de la hembra es menos determinante para que se copule en estos experimentos. Como hemos visto tiene sólo cierto efecto sobre que se dé la cópula y ninguno a la hora de determinar cual de los dos machos copuló (cuando sólo lo hace uno de los dos). ¿Cómo interpretar esto? Parece que la capacidad de la hembra para evitar copular está menos vinculada a sus capacidades físicas. Quizá porque escapar volando dificulta la persecución y huir de este modo

no depende tanto de poder realizar un esfuerzo sostenido en el tiempo como escapar caminando (que es el único modo del que disponen en la cámara).

Es más adecuado comparar estos experimentos con los realizados en una cámara de cortejo empleando machos y hembras de estos mismos genotipos. Nos referimos a los experimentos en que compiten un macho wt y uno cv por copular con una hembra cv. El problema es que en estos experimentos no consideramos las tallas.

La frecuencia de cópula en los experimentos en cámara de cortejo en que participan machos de los dos genotipos y la hembra era cv fue del 75%, mientras que en los realizados en tubo fue del 55% a 25°C y del 93% a 18°C. Es decir, en la cámara las hembras presentan un valor intermedio en su propensión a copular con alguno de los machos o, dicho de otro modo, tuvieron una capacidad intermedia para evitar la cópula. Esto nos da oportunidad de comprobar si, tal como parece, cuando el número de cópulas es relativamente bajo lo copa el macho wt, pero si ese porcentaje aumenta hay cabida para el macho cv.

De las ocasiones en que sólo copula un macho éste fue el cv en el 8% de los tubos que mantuvimos a 25°C (MF=4%). A 18°C copuló el cv en el 26% de las ocasiones (MF=21%) y en la cámara el 25% (MF=19%). Es decir, en los experimentos realizados en la cámara se copula en menor número de ocasiones que en los tubos a 18°C, pero la frecuencia en que copula el macho cv es prácticamente la misma. Desde luego en esta comparación no tenemos en cuenta las dobles cópulas, que no se producen en los experimentos realizados en la cámara, y que llegan al 17% de los experimentos a 18°C. Aun así no parece que el hecho de que la hembra copule más frecuentemente se corresponda necesariamente con que copule en más ocasiones el macho cv. Es decir, no podemos vincular el aumento de MF del macho cv con situaciones en que la hembra tenga menos posibilidades de evitar copular, puesto que el aumento de la MF de la hembra no se corresponde con un aumento en la MF del macho cv. Parece, pues, que la frecuencia de cópula del macho cv en los tubos a 18°C se debe no a que ella tenga menos posibilidades de escapar, sino a la explicación dada de que aumenta el tiempo entre encuentros fortuitos entre los machos y la hembra.

Una tercera comparación potencialmente interesante es con los tubos en que no había opción a elegir pareja de los experimentos que estudiaremos en el próximo apartado. Estos experimentos se realizaron a 25°C y las moscas se mantuvieron juntas 48h, es decir, el doble del tiempo empleado en los experimentos en tubo con dos machos de genotipo diferente. Es, en cierto sentido, ver el efecto de añadir un segundo macho mutante, pero teniendo en cuenta el cambio en el genotipo de la hembra. Si no tenemos en cuenta los genotipos de las moscas esperamos que, por un lado, el

aumento en el número de machos provoque un aumento de la MF, mientras que la disminución del tiempo en que permanecen juntos pronostica un descenso de la frecuencia. ¿Qué efecto será el que defina el resultado final?

En los experimentos con dos machos (a 25°C) la hembra copuló el 55% de las ocasiones, mientras que estando dos días, aunque con un único macho, fue del 72%. Es decir, parece que dos machos un día logran menos cópulas que un único macho en dos días. Antes de dar por buena esta conclusión debemos tener en cuenta que ante el macho solitario la hembra es wt, mientras que ante los dos machos ésta es cv. Recordemos que en experimentos en cámara de cortejo el incremento del número de machos a que se enfrenta una hembra cv reduce su MF y que ante un único macho las MF de las hembras wt y cv eran muy similares. En cierto sentido los resultados en tubos corroboran el efecto del incremento en el número de machos en la MF de la hembra cv, pero con el matiz de que también reducimos el tiempo de exposición. Con lo que quizá lo más prudente sea no tomar en cuenta esta conclusión.

En cuanto a la importancia de la talla en estos tubos con un macho y una hembra wt, aunque no está recogido en los resultados, podemos afirmar que no hay diferencias entre la talla de machos y hembras que copulan con los que no, excepto en la tercera tanda en que las hembras que copularon fueron más pequeñas. Los resultados de una y otra metodología tienen en común, de nuevo, una cierta importancia de la talla de la hembra regulando si se da o no la cópula. Pero, desde luego, el efecto es mucho menos relevante que en los experimentos realizados en la cámara de apareamiento.

Quizá sea apropiado traer de nuevo a colación los resultados obtenidos por Urban Friberg y Göran Arnqvist (2003), pues en este caso sí comparamos experimentos realizados en tubo en que incrementamos el número de machos y controlamos la talla de todos ellos. Siempre teniendo en cuenta que ellos miden la frecuencia de segundas cópulas, encontramos que, en esta comparación, efectivamente aumentar el número de machos no produce un aumento de la MF. De hecho se produce una disminución, pero teniendo en cuenta dos diferencias muy notorias entre unos y otros tubos: variamos el genotipo de la hembra y redujimos el periodo en que mantenemos juntas las moscas. Por otro lado en lo que se refiere al efecto de un aumento de la talla del macho sobre la MF, en los tubos con dos machos de genotipos distintos cualquier posible efecto de ésta lo enmascara el efecto de la mutación sobre el estado físico de los machos. En los experimentos con un único macho, tal como acabamos de comentar, que el macho sea mayor no provocó que copulase más frecuentemente. Pero no hemos de olvidar que Arnqvist y Friberg calculan esta frecuencia con el número de segundas cópulas, aspecto al que nosotros no hemos atendido.

5.4.3- Consecuencias sobre el tamaño de la descendencia de no permitir a los padres escoger pareja

En este tipo de experimentos, a nuestro entender, dos son las conclusiones relevantes a tomar en cuenta. En primer lugar parece que cuando se puede escoger con quien copular el tamaño de la descendencia es mayor. En segundo lugar parece también claro que un número elevado de machos resulta perjudicial para la hembra y también para su descendencia.

La explicación inmediata a la primera conclusión es que cuando las hembras pueden elegir entre varios machos tienden a aparearse con los de mayor tamaño. Aunque, desde luego, caben otras opciones que expliquen la mayor talla de la descendencia cuando la hembra pudo elegir. Por ejemplo, que las diferentes circunstancias que viven las hembras que participan en los dos tipos de experimentos (en los que se puede elegir y en los que no) afectan a la talla de su descendencia. Sobre todo si tenemos en cuenta la relativamente baja heredabilidad de la talla (Wilkinson 1987). No creemos que haya razones para pensar que las circunstancias levemente diferentes que viven las hembras de unos y otros experimentos sean suficientes para explicar la diferente talla de sus descendencias.

Otra posible causa de incremento de la talla de la descendencia es que, por alguna razón que contraviene buena parte de la bibliografía, el hecho de copular con más de un macho beneficie a la talla de la descendencia. Quizá parece una explicación peregrina, pero es una de las causas que se esgrimen, en ocasiones, para explicar que las hembras copulen en más de una ocasión pese a los riesgos que ello representa (Jennions y Petrie 2000). No tenemos ningún modo de descartar esta opción, excepto referirnos a la bibliografía (Fowler y Partridge 1986; Partridge, Green y Fowler 1987; Chapman y col. 1995) que rechaza esta posibilidad con casi total seguridad, al menos en *D. melanogaster*.

Por último no está de más considerar que lo que incrementa la talla de la descendencia no fuera que las hembras puedan elegir, sino que sean los machos los que pueden hacerlo. Es pensar si invertir los roles preconcebidos tiene algún sentido, un esfuerzo que en ocasiones produce interesantes resultados (Cobb y Ferveur 1996). En contra de esta explicación tenemos que, al menos en alguno de los experimentos en que los machos podrían elegir, apenas hay hembras que no dejen descendencia. Es poco sensato pensar que todas las hembras han sido “elegidas” cuando no son diferentes, al menos en talla, de las de los experimentos en que se introduce un macho y una hembra. Y, en ese caso, la proporción de hembras que copuló fue sensiblemente menor.

En este momento parece importante, de cara a optar por una causa u otra, valorar si es posible, con nuestras líneas de moscas, que la elección de macho por parte de la hembra se vea realmente reflejada en la talla de la descendencia. Hemos de considerar en qué medida las homogenizaciones de fondo han dejado suficiente variabilidad genética en la población para que las diferencias en la talla de los machos que participan en estos experimentos sean debidas a la variedad de efectos aditivos genéticos y no a factores ambientales. Si la variedad de talla de los padres no se debe, al menos en parte, a pequeñas diferencias genéticas no tiene sentido esperar diferentes tallas en la descendencia. Porque aunque la hembra pudiera elegir machos de mayor tamaño, si este mayor tamaño no tiene un componente heredable sus hijos no serán distintos en tamaño de los de hembras que copularon con machos más pequeños, aunque genéticamente iguales. Y nosotros deberíamos explicar nuestros resultados no en base a la elección de la hembra, sino a factores referidos al tratamiento experimental.

Aunque no lo hemos mostrado, hay correlación entre las tallas de los progenitores y sus descendientes en los experimentos en que no cabía duda de la paternidad. La homogenización del fondo genético entre las dos líneas y la endogamia que conlleva no suprimió la variabilidad en factores genéticos, seguramente aditivos, que afectan a la talla final de la mosca.

La segunda conclusión, el perjuicio que causa un número elevado de machos, no se refiere exclusivamente a los experimentos en que empleamos cuarenta machos y diez hembras. También se observan diferencias de talla en la descendencia de los experimentos en que hay 30 machos frente a cuando hay 20. A mayor número de machos, menor es el tamaño de la descendencia. Puesto que las posibilidades de elegir macho son indudablemente mayores, parece claro que, en alguna medida, el alto número de machos perjudica a la viabilidad de la hembra y a su descendencia.

En los experimentos en que 10 hembras se exponen a 40 machos los efectos sobre la viabilidad de la hembra son evidentes (**tabla 5.4**). Afirmamos esto aunque el descenso significativo se da en el número de hembras que dejaron descendencia y no en cuántas aparecieron muertas al finalizar el periodo de exposición a los machos. Creemos que este descenso de la fertilidad también es debido a efectos del número de machos sobre la salud de las hembras. Es muy improbable que en este experimento las hembras no copulasen y por ello descendiera la fertilidad, sino más bien que el efecto nocivo de la exposición a muchos machos ha reducido su viabilidad hasta el punto que, aún estando fecundadas, no fueron capaces de dejar descendencia.

La nocividad de los machos está principalmente vinculada a la cópula (Chapman y col. 1995; Prout y Clark 2000) pero también, en menor medida, a la intensidad del cortejo (Partridge y Fowler 1990; Holland y Rice 1999). Aunque se considera que la hembra es capaz de evitar copular si no lo desea, creemos que las hembras de nuestros experimentos acumulan daños no sólo debidos

al desgaste de ser perseguidas y cortejadas, sino por el hecho de haber copulado en varias ocasiones, aunque esto implique suponer que se han dado cópulas forzadas. En algunas ocasiones se han descrito apareamientos forzosos, en circunstancias en que a la hembra le es completamente imposible escapar de los machos que la cortejan (Burnet y Connolly 1974). En la naturaleza, además, no son infrecuentes las copulas forzadas con hembras inmaduras (Markow 2000).

Es muy importante, al menos a la luz de las conclusiones que venimos extrayendo, los resultados de la tercera tanda. En ella seleccionamos moscas pequeñas atendiendo además a que machos y hembras fueran de tamaños parecidos. El objetivo era tratar de limitar que la diferencia en la capacidad física fuera la causa de la selección de macho. Puesto que la descendencia de tubos con varios machos siguió siendo de mayor tamaño podemos afirmar que, pese a haber intentado minimizar el efecto de las capacidades físicas la selección se produce. Aunque no evaluamos seriamente en qué medida disminuyó la actividad de las moscas y si realmente decreció la capacidad de las hembras para huir de los machos, si parece plausible pensar que la selección de pareja no es debida exclusivamente a una cuestión de resistencia física del macho.

De nuevo se abre la posibilidad de comparar los resultados de estos experimentos con los descritos anteriormente. Aunque las condiciones del recinto donde realizamos estos experimentos son más semejantes a las de los experimentos en que compiten machos de dos genotipos diferentes, ya sabemos que el efecto de la talla en esos experimentos se ve muy matizado por esa variable.

No es fácil sacar conclusiones de comparar estos experimentos con los realizados en la cámara de cortejo, por la distinta situación a que se enfrentan las moscas, tanto en lo referido al recinto como al tiempo en que se mantuvieron juntas y al número de moscas que se encuentran. Una diferencia *a priori* interesante entre los dos tipos de experimentos, es, en principio, el que la hembra tenga la capacidad de escapar volando. Sin embargo esta diferencia quizá no es tan relevante como en anteriores comparaciones, puesto que cuando el número de machos es muy elevado las posibilidades de las hembras de huir seguramente fueron muy bajas.

Es importante resaltar que tanto en estos experimentos como en los realizados en cámara de cortejo tenemos situaciones en que no hay competencia entre machos y situaciones en que sí compiten.

Una primera diferencia en los resultados es que la talla del macho no es igual de relevante para que logren copular en ambos experimentos. En los experimentos con competición en la cámara no era ventajoso que un macho fuera mayor que otro. En estos experimentos, sin embargo, la hembra que se enfrenta a varios machos muy probablemente, dado el tamaño de su descendencia,

copuló con un macho que presentaba mayor talla que la media. Esto nos indica que en estos experimentos la talla de los machos que compitieron sí fue determinante en quién logró copular. ¿Por qué en estos experimentos es relevante la talla de los machos frente a la de sus adversarios? La explicación probablemente esté en el número de machos que participan. En estos experimentos la competencia a la que se enfrenta cada uno de los machos es muchas veces superior a la que están sometidos los machos que compiten en la cámara de cortejo.

En los experimentos sin competición en la cámara de cortejo sí es relevante la talla del macho, o al menos su talla relativa. En los experimentos con un único macho y una hembra realizados en tubo, sin embargo, no hay diferencia en las tallas de los machos que copulan y los que no. Estos análisis no aparecen recogidos en los resultados. El motivo de que no haya diferencias en la talla será, esencialmente, el largo periodo en que conviven macho y hembra que, tal como hemos comentado antes, tiene como consecuencia que la mayoría de los animales copulen y, por tanto, no tenga ningún sentido hacer esta comparación.

Podemos valorar el efecto de la talla de la hembra en estos experimentos en dos sentidos. Puede que la talla de la hembra afecte a si se produce o no la copula. En este sentido no hallamos diferencias significativas al comparar la talla de las hembras que dejaron descendencia y las que no, aunque estos análisis no los hemos incluido en los resultados. En cualquier caso hay que tener en cuenta que en los experimentos con competición tampoco son muchas las hembras que no dejaron descendencia

En los experimentos en cámara hemos visto que cuando los machos y hembras son de talla semejante la probabilidad de que se dé la cópula es mayor. La talla de la hembra influye en este caso en referencia a la talla del macho. Puesto que en estos experimentos lo que analizamos es la talla de la descendencia, un valor que depende de la talla de ambos progenitores, no podemos saber si las hembras grandes copularon con un macho de talla parecida a ellas. Desconocemos la talla del macho con el que estas hembras se aparearon y sólo sabemos que debía ser mayor que si le hubiéramos asignado uno aleatoriamente.

Al comparar ambos tipos de experimentos encontramos que en ambos casos la competencia entre los machos incrementa la frecuencia de cópula de la hembra. El efecto en los experimentos en cámara ya lo hemos comentado (se pasa de un 80% cuando no compiten a una MF del 100% cuando hay competición). En los experimentos en tubo se pasa de una frecuencia de cópula de la hembra del 72% al 92% en los experimentos en que hay dos machos por cada hembra. El incremento de competencia no se refleja en un incremento de la MF de la hembra cuando la densidad de machos por hembra es mayor que 2 machos por cada hembra. De hecho para

densidades mayores de machos la MF descende, pero no creemos que esto se deba a que se diesen menos cópulas, sino porque las hembras no dejaron descendencia (a causa del efecto nocivo de alto número de machos) que nos permitieran comprobar que habían copulado. Algunos autores proponen que la densidad de dos machos por hembra es la óptima para la descendencia (Partridge 1980; Partridge y col. 1986; Fowler y Partridge 1986; Taylor y col. 1987).

Contrariamente a estas observaciones algunos autores (Gromko y Gerhart, 1984) afirman que la actividad reproductora correlaciona negativamente con la densidad de moscas. Es decir, a mayor número de machos con menos frecuencia se copula. Explican estos resultados porque aumentar el número de machos causa que estos se estorben unos a otros. Las diferencias con nuestros resultados son obvias, y no sólo con este tipo de experimentos, sino con todos los descritos anteriormente. Varios matices diferencian su trabajo del nuestro. Por un lado, ellos trabajaban con hembras no vírgenes y, además, emplearon moscas mutantes (*bw*, *f*, *car*). Además en sus resultados no consideran el posible efecto del desplazamiento del esperma de las segundas cópulas, lo que podía afectar seriamente a sus resultados.

Una comparación realmente interesante es entre nuestros resultados y los obtenidos en algunos de los experimentos que Gerald Wilkinson publicó en 1987. Los objetivos de su trabajo no tienen apenas nada en común con los nuestros, pero realizó algunos experimentos muy semejantes a estos, pues quería estimar el efecto de que la hembra pueda elegir sobre la talla de la descendencia. Él realizó tres réplicas que incluían 40 tubos en que emparejó moscas al azar, de modo que no hubiera elección posible, y un tubo en el que introdujo 80 machos y 40 hembras. Los animales permanecían juntos durante cuatro horas para luego analizar la talla de la descendencia que dejó cada hembra. Analizó la descendencia de forma más exhaustiva que nosotros, pues recogió 4 machos de cada día en que eclosionó la descendencia, mientras que nosotros recogimos machos y hembras un único día (el segundo).

Él, como nosotros, encontró que las hembras que pueden elegir dejan descendientes de mayor tamaño. Además encontró, también como nosotros, que la descendencia siempre presentaba mayor talla que sus progenitores, probablemente por haber crecido en un entorno con menos densidad larval. En su trabajo los machos son un 21% mayores que sus padres en experimentos sin competición y un 23% cuando compiten. En nuestro caso estos valores son, como promedio, cercanos al 10%.

Hay dos diferencias notables respecto a su trabajo, no tanto a nivel de resultados sino de precauciones a la hora de sacar conclusiones. En primer lugar, él no comprobó que el tamaño de los machos y las hembras que intervinieron en ambas situaciones fuera el mismo, ni tampoco tuvo nunca en cuenta el efecto del tamaño de las madres en la descendencia. Además analizó los

resultados con un test ANOVA, asumiendo que carecía de importancia violar las condiciones necesarias para realizar con fiabilidad análisis paramétricos.

En general podemos afirmar que nuestros resultados y los suyos presentan resultados casi idénticos, pese a las cautelas extra que nosotros hemos tenido a la hora de analizar los resultados.

Otra posible comparación es con el primer paso de los experimentos de selección que realizaron Daniel Promislow y sus colaboradores (1998). En ellos se observan cómo evolucionan diferentes características en dos líneas de moscas (150 tubos cada línea) sometidas respectivamente a monogamia obligada (1♀:1♂) o a poligamia (1♀:5♂). Entre estas características observa cómo evoluciona el peso seco de la descendencia. La medida de dicho peso en el primer paso de selección es, en cierto modo, equivalente a nuestros experimentos. Encontró que los machos nacidos de experimentos en monogamia presentaron menor peso seco que en los experimentos poligámicos. En las hembras nacidas de cada línea en esta primera generación no encontró diferencias. Con el paso de las generaciones las diferencias del tamaño de las moscas de ambas líneas se hacen extremas en las primeras generaciones para, inesperadamente, converger hacia la 10ª generación.

5.5- ¿Podemos asegurar que las hembras escogen su pareja?

Tal y como ya hemos comentado nada puede certificar que la hembra elige, o no elige, excepto que encontremos una mutación que en las hembras haga que en situaciones en que sabemos que suele copular un macho con unas características dadas, éste deje de tener ventaja. Además la hembra mutante no debe presentar modificaciones importantes en sus capacidades perceptivas o motoras.

Éste, que en el fondo es el objetivo último de este trabajo no podemos emplearlo para demostrar que la elección se produce. ¿Qué modo tenemos, entonces, de estimar si se produce o no se produce la elección? La vía que decidimos seguir es semejante, en cierto sentido, a la empleada por otros autores con anterioridad (Casares y col. 1998).

Es evidente que en *D. melanogaster* los apareamientos no se dan al azar, sino que suelen copular con más frecuencia machos con unas determinadas características. Esto puede deberse a varias causas. Puede ser porque la hembra los escoja, de un modo más o menos activo, o simplemente porque su habilidad para seducir a la hembra es mayor que la de otros machos. El objetivo es, entonces, determinar la habilidad para inducir la cópula de machos y hembras y tratar

de ver si el resultado cuando se incluyen varios machos es proporcional a estas capacidades o bien el resultado difiere de lo esperado según éstas.

¿Como generar cierta variedad en las capacidades para fomentar la cópula que cause que sean relativamente grandes las diferencias entre las habilidades/propensiones?

En primer lugar decidimos considerar el empleo de una línea mutante, eligiendo la mutación *cv2*. Pensamos que una mutación puntual, sobre todo una que afectara, aunque levemente, a la estructura del ala haría algo menos eficaces a los machos. Tratamos de homogenizar su fondo genético con el de nuestra línea silvestre a fin de reducir las posibles diferencias entre ambas líneas en cuanto a talla u otras consideraciones importantes para la cópula. Pretendimos así reducir al mínimo las diferencias genéticas entre las líneas ajenas a la mutación.

Otra opción que tomamos fue mermar la capacidad de canto de los machos. Esta medida indudablemente les hace menos eficaces estimulando a la hembra (Ewing 1964; Scott 1994) pero parece más tener que ver con su falta de aptitud que con que la hembra no los prefiera. Sin embargo esta misma duda se nos plantea ante cualquier método para conseguir machos con distinta capacidad de estimular la cópula.

Quizá estas decisiones puedan no considerarse las más apropiadas, pues introducen grandes modificaciones en la capacidad de reproducirse. Haciendo que, quizá, las diferencias de eficacia para lograr aparearse detectadas son debidas más bien a que los machos son incapaces y no a que sean poco elegibles. Pero, como ya hemos comentado, ninguna diferencia, ni aun el uso de distintas líneas de moscas sin ninguna mutación detectable (como, por ejemplo, en Casares y col. 1998), garantizan que las diferencias se deban a la elegibilidad. No debemos olvidar que, tal como reconocen muchos autores (Bennett y col. 1997; Promislow y col. 1998) la mayoría de las señales que perciben las moscas unas de otras, las que les dan identidad, están fuera de nuestras capacidades de percepción. No estamos cualificados para decidir si dos machos son más o menos atractivos o si alguno de ellos presenta alguna característica que les inhabilite como potencial pareja más allá de los resultados obtenidos a través de mediciones del comportamiento.

Nuestros resultados lo que nos indican es que, en la mayoría de los casos, la hembra no copula cuando compiten dos machos con una frecuencia diferente de la que lo haría con el más atractivo de estos machos. Es decir, su MF cuando compiten dos machos no es mayor a la que se produce ante uno de estos dos machos.

Otra explicación posible para este resultado es que los valores que estiman el atractivo de los machos sin competición no estén teniendo en cuenta su habilidad para enfrentarse a un contrincante. Cabe pensar que el hecho de competir cause, por el hecho de tener que prestar atención a un segundo macho, un descenso del interés que pueden poner en cortejar y, con él, de su habilidad para fomentar la cópula. De hecho en estudios sobre la frecuencia de cópula con hembras no vírgenes algunos autores mantienen que competir disminuye la eficacia al copular de los machos (Gromko y Gerhart 1984). Bajo esta premisa los machos presentarán en competición una habilidad para copular algo menor que en solitario. La suma de apareamientos de uno y otro, teniendo en cuenta esta desmejora, darían cuenta del número final de cópulas sin haber tenido que tener en cuenta en ningún momento la propensión a copular de la hembra. Desde luego esto podría ser así, pero parejas de machos –que en principio se “estorbarían” lo mismo- obtienen resultados diferentes ante diferentes hembras (**figura 7.1**).

Podemos afirmar que cuando se le presentan dos machos la hembra no copula en una frecuencia dependiente del atractivo de cada macho. Es la hembra la que marca el límite al número de cópulas. Esto, desde luego, no es afirmar que la hembra esté eligiendo con qué macho copula. Pero, ciertamente, si la hembra elige es necesario que los límites al número de cópulas los establezca ella. Obviamente en función de los machos con los que se encuentra, pero no como mero mecanismo de respuesta a lo atractivo que resulte un macho u otro.

Por tanto nos atrevemos a decir que, si bien no podemos certificar que la hembra esté eligiendo, sí cabe esa posibilidad en base a nuestros resultados. Otro asunto muy diferente es si podemos afirmar que esa selección es un proceso “voluntario”. Y por voluntario entendemos un proceso en que la hembra considera la información que recibe de los machos, la procesa y emite una respuesta acorde que puede consistir en copular con alguno de ellos.

Desde luego puede ser que este límite que establece la hembra sobre la frecuencia de cópula se deba a causas que no tienen que ver con un proceso de elección. Podría ser que cada hembra según sus características tenga limitadas sus posibilidades de copular por razones fisiológicas o comportamentales que no pueda ser rebasado. Por ejemplo, que una proporción de las hembras de un determinado tipo sean incapaces de percibir la canción de los machos. O si la hembra no elige sino que se limita a huir de los machos las hembras especialmente capaces de mantener sostenidamente un esfuerzo impondrán un límite a la MF que se puede lograr.

No es fácil descartar esta hipótesis, pues aunque es cierto que la frecuencia de cópula de las hembras fluctúa en función de muy variadas circunstancias, que podemos achacar a que eligen o a

motivos debidos al proceder de los animales, con un trasfondo comportamental o fisiológico, ajenos a la elección tal como la entendemos. De modo que, en el estado actual de nuestro trabajo, no podemos confirmar ni rebatir ninguna de estas opciones.

Para demostrar que la hembra elige, quizá podríamos pensar en analizar si la proporción de veces que copula uno u otro macho cuando dos machos compiten está en relación a su habilidad. Queda claro que no se copula con más frecuencia de la que determina la propensión a hacerlo de la hembra. Pero de este número de cópulas puede variar la proporción que son debidas a uno y otro de los machos y pensamos en estudiar si esta diferente proporción era debida a las habilidades del macho. De no ser así podríamos presentar alguna prueba adicional de que se produce cierta elección por parte de la hembra

En las competiciones es cierto que, aunque no es así en todos los casos, copula más frecuentemente de los dos machos el que era más competente en solitario. Que el reparto del número de cópulas entre los dos machos no sea al 50% no indica en que las MF conseguidas por cada uno de los machos dependan exclusivamente de su habilidad para inducir la cópula (tal como se afirma en Casares y col. 1998). ¿Cómo estimar las proporciones en que copularía cada macho si este reparto sólo dependiera de su habilidad?

Nuestra intención era dirimir qué macho debería copular más frecuentemente dependiendo del tiempo que tarda en lograr copular (CL) cuando no hay competición. Este CL queríamos estimarlo, del mismo modo que lo hemos hecho con las MF, para cada uno de los machos que participa en la competición, en función de las distintas variables. El problema es que nuestra capacidad para estimar este valor, debido a la gran variabilidad que muestran los CL obtenidos, es muy baja. Es decir, que tenemos muy poca certeza de que un CL estimado sea superior a otro. En muy pocas ocasiones podremos certificar que el CL estimado para un contrincante supera al del otro, siendo por ello muy difícil decidir cual de ellos hubiese copulado más habitualmente si esto sólo dependiera de sus habilidades. Visto de otro modo, nuestro modelo estima que un CL superaría al otro cerca del 50% de las ocasiones. Es decir, que el reparto de las cópulas entre los contrincantes sería prácticamente al azar.

¿Por qué no dirimir estos empates aprovechando el modelo del que disponemos, es decir, en función de las p_{SC} ? Porque para las p_{SC} no hemos sido capaces de calcular un intervalo de confianza, es decir, que carecemos de las herramientas que nos permitan estimar qué proporción de las veces una MF superaría a la del contrincante. Podemos probar hipótesis como que siempre logre copular el macho que alcanza mayor p_{SC} o que el reparto es al 50%. Pero ninguna de estas opciones

parece adecuada como aproximación a una situación en que el número de cópulas de cada macho se deba exclusivamente a sus habilidades.

Es muy interesante comparar nuestros resultados en esta parte del trabajo con los obtenidos en un trabajo que parte de premisas muy similares (Casares y col. 1998). En él se estudia el comportamiento de las moscas ante animales control y se comprueba si es suficiente para explicar el resultado cuando compiten dos individuos diferentes. Es decir, ellos también tratan de estimar la habilidad para lograr copular de machos y hembras y ven si es suficiente para explicar los resultados obtenidos cuando los animales han de competir. Su conclusión es que los resultados que encuentran no difieren de los esperables si sólo importa la propensión a copular de machos y hembras y, por tanto, descartan la elección.

Hay diferencias, por tanto, en las conclusiones de nuestros trabajos que pueden deberse a la forma concreta de llevarlos a cabo.

Una primera diferencia notable es que ellos buscan no sólo elección por parte de las hembras, sino también de los machos. Es una opción que, en principio, nosotros desechamos en base a la escasa importancia que se da a este fenómeno en la bibliografía. Aunque es cierto que, aún dentro del género *Drosophila*, algunos autores mantienen que se produce elección masculina (Byrne y Rice 2006)

En el artículo de Pelayo Casares (y colaboradores) de 1998 se emplea como estimador de la habilidad para copular (que ellos llaman propensión) el CL, puesto que correlaciona con la frecuencia de cópula. Esta propensión a copular, tanto para machos como para hembras, presenta un componente genético importante (Casares y col. 1992; Casares y col. 1993; Piñeiro y col. 1993). Mediante una regresión calculan el valor medio de esta propensión (CL) para machos y hembras de distintas líneas. Para ello emplean los CL obtenidos al presentar machos o hembras de una de estas líneas a dos individuos del sexo contrario que pertenecen a una línea que emplean como control. Es importante resaltar que introducen siempre dos individuos control con el animal del cual quieren conocer su propensión.

Conociendo las propensiones de machos y hembras a copular con estos individuos control comparan si los resultados obtenidos al poner a competir machos (o hembras) de dos de estas líneas son proporcionales a esas propensiones. Esto lo hacen analizando en dos sentidos la frecuencia de cópula de cada uno de los contendientes. En primer lugar comprueban si el número de cópulas no se distribuye equitativamente (con una probabilidad razonable) entre ambos contendientes. Si esto es así observan si el mayor porcentaje de cópula de los dos animales que compiten lo obtuvo el animal

más propenso. Al ser así en casi todos los casos, concluyen que es innecesario considerar que puede darse elección.

No nos parece que demostrar que se producen desviaciones de la distribución equiprobable de las cópulas entre los dos contendientes y que, cuando es así, tiende a copular más el más eficaz permita afirmar que no hay elección. Nuestra aproximación a la cuestión de si hay elección consiste en observar si la frecuencia con que copula la hembra en un experimento en que compiten dos machos es con arreglo a lo que haría sin contendientes, copula con una frecuencia proporcional a los seductores que le hubieran resultado los machos o una tercera vía intermedia que no se correspondiese con ninguna de estas hipótesis.

También son importantes las diferencias en el modo en que calculamos la habilidad para lograr copular de las moscas. Nosotros no utilizamos como propensión a copular el valor obtenido por machos (o hembras) ante una línea control, sino el que, en esas condiciones dadas, mostraría ese macho por esa hembra (o viceversa) si no hubiese competición. La manera de calcular el valor es estimándolo, también, empleando una regresión. Pero ésta se genera a partir de resultados obtenidos en encuentros de un macho y una hembra realizados en circunstancias similares a las de los experimentos.

Además de indagar si la propensión a copular decide el resultado de las competiciones entre dos individuos una parte de nuestros resultados está dedicada a realizar múltiples comparaciones entre los experimentos en que no hay competición y los que se compite, comprobando si tiende a copular más el macho más propenso y en qué medida.

5.5.1- Conclusiones que podemos extraer al comparar diferentes situaciones experimentales

Realizamos comparaciones entre los experimentos con y sin competición y también comparamos los experimentos con competición y sin competición entre sí. Es decir, tal como se describe en los resultados, comparamos unos experimentos sin competición con otros, los experimentos sin competición con aquellos en que sí competían y, por último, diversos experimentos en que se compite entre sí.

Es importante resaltar que en estos análisis lo que se compara es la MF y el CL medio obtenidos para los diferentes tipos de experimentos. Con tipo de experimento nos referimos a todos los experimentos en que participaron machos y hembras con las mismas características (un mismo genotipo y la presencia o ausencia de alas); no consideramos las variables edad, fecha ni hora al calcular estos dos valores (MF y CL medio). Esto tiene una consecuencia, puesto que las variables

no consideradas influyen sobre el CL y la MF. Desafortunadamente cuando realizamos los experimentos no fuimos cuidadosos con la necesidad de que en cada tipo de experimento estuviesen compensadas estas variables. Por ejemplo, para comparar experimentos con un macho wt ante una hembra cv con experimentos con dos de estos machos debimos haber realizado el mismo número de experimentos de cada tipo en Mayo, Junio, etc. Adolecen estas comparaciones, por tanto, de una organización más equilibrada en la distribución de los experimentos. Sin embargo es importante tener en cuenta que, a causa de las diversas comparaciones en las que puede participar cada tipo de experimentos, que no era fácil realizar un número razonable de repeticiones del experimento en cuestión junto con todas sus posibles comparaciones en el transcurso de una hora. Con esto no queremos disculpar el error en el diseño, sino informar que siempre fuimos conscientes de este problema que se agudizó al resultar inesperadamente muy significativa la variable “mes”.

Esto hace que la veracidad de cada una de estas comparaciones haya que matizarla en función de las semejantes o diferentes condiciones en que fueron realizados la mayoría de los experimentos de los tipos que se comparan en cada ocasión, sobre todo en lo referente al mes.

En primer lugar comentaremos el efecto de sustituir el macho o la hembra en los experimentos en que no había competición por uno del otro genotipo. Curiosamente, cuando los machos son bastante competentes, el cambio de hembra no tiene efecto, mientras que sí lo tiene cambiar el macho. Es decir, las hembras no están limitando el número de cópulas y es la distinta habilidad del macho la que condiciona finalmente la MF. Cuando los machos se ven muy limitados en sus habilidades, al eliminarles las alas, entonces la propensión de las hembras sí tiene efecto. Es decir, en esta situación el cambio de hembra sí resulta significativo. Probablemente esto se debe a que las diferencias en los genotipos de los machos son menos notorias cuando carecen de alas, dada la gran limitación a la que ambos están sometidos.

El que sea la capacidad para fomentar la cópula de los machos, que variamos al sustituirlo por uno del otro genotipo, lo que determine el número de apareamientos entra en contradicción con la afirmación de algunos autores (Casares y col. 1993; Mackay y col. 2005) de que el límite al número de cópulas lo establece siempre la hembra. Quizás esto es así solamente cuando los machos son semejantes de modo que el estímulo que reciben las hembras es muy parecido. En estos artículos los autores emplean machos de fenotipo normal, sin ninguna mutación visible, haciendo posible que la capacidad de estimular a la hembra de ambos sea muy semejante. En nuestros experimentos vemos que la propensión a copular de la hembra es relevante principalmente cuando el estímulo que ofrecen los machos es semejante, como por ejemplo cuando se presentan dos machos o cuando el macho con el que se encuentra la hembra carece de alas.

En general podemos observar que todos estos cambios afectan principalmente a la MF, mientras que el efecto sobre el CL es siempre más limitado, posiblemente debido a la mayor variabilidad de esta medida. También en la bibliografía se describen situaciones (Scott 1994) en que cambios que propician variaciones en la frecuencia de cópula no afectan al CL.

Consideremos ahora el efecto de este mismo cambio, del macho (o hembra) de un genotipo por el del otro, en los experimentos en que incluimos dos machos iguales. Lo que se observa es, en principio, que cambiar la hembra manteniendo el genotipo de los machos sí tiene una importante repercusión, mientras que el cambio de genotipo de los machos no afecta tan significativamente como cuando sólo había uno.

Esto se puede interpretar en varios sentidos. En primer lugar es que al incluir dos machos la capacidad conjunta para que al menos uno de ellos copule (para que la hembra copule) es semejante independientemente del genotipo. Podríamos decir que, de nuevo, no hay diferencias significativas en la intensidad de cortejo que percibe la hembra (por su elevada cuantía, en este caso, y por su gran limitación, en el caso de los machos sin alas) y que esto hace que se vuelva importante la propensión de la hembra.

Por otro lado vemos que las hembras, que en principio se comportaban igual ante un determinado tipo de macho, al pasar a incluir dos encontramos que, según su genotipo, difieren en su comportamiento. Es decir, las hembras wt responden de distinto modo que las cv al cambio de genotipo del macho cuando hay dos machos, aunque antes respondían del mismo modo. Este cambio en el modo de responder de una y otra nos indica que no se limitan a dar una respuesta sin matices a la intensidad de cortejo u otros estímulos que emiten los machos.

Podemos enfocar estos resultados entendiendo que buscamos qué efecto produce aumentar el número de machos en cada experimento. Lo que encontramos es que la frecuencia de cópula de cada tipo de hembra varía en sentidos opuestos, de modo que la presencia de dos machos hace que la hembra wt copule con más frecuencia de lo que lo hace ante un único macho, mientras que la hembra cv lo hace en mucha menor frecuencia. Es otro modo de explicar lo comentado en los párrafos anteriores y sugiere un papel activo de la hembra a la hora de determinar si se produce o no la cópula.

Para resolver si realmente la hembra elige Pelayo Casares y sus colaboradores proponen al final de su artículo comparar el efecto que tiene cambiar los machos que compiten sobre el comportamiento de dos hembras genéticamente diferentes, conociendo previamente las propensiones a copular de ambas.

En nuestros resultados las dos hembras se comportaban igual ante un tipo dado de macho. Sin embargo cuando incluimos dos machos las hembras muestran respuestas divergentes ante una misma pareja de machos. Es decir, la hembra wt actúa ante dos machos wt de un modo distinto a como lo hace la hembra cv. Y ante machos cv ocurre exactamente lo mismo, ambas se comportan de distinto modo. Mientras que cuando había un único macho ambas se comportaban del mismo modo ante el mismo tipo de macho (es decir, no podíamos distinguir el comportamiento de la hembra wt ante un macho wt del comportamiento de la hembra cv).

¿Es este resultado suficiente para apoyar la idea de que la hembra está eligiendo, tal como se sugiere en el artículo? Desde luego que las hembras se comporten de un modo diferente ante los mismos machos indica que su papel es relevante y, en algún sentido, exige un cambio en su comportamiento. Sin embargo creemos que hubiera sido más acertado por nuestra parte hacer esta misma comparación pero empleando dos machos diferentes. Esto nos hubiera permitido observar si cada hembra tendía a aparearse con cada uno de los machos en la misma proporción o no, lo cual daría indicios aún más claros de que la hembra está eligiendo. Sin embargo no realizamos experimentos que realmente nos permitan llevar a cabo esta comparación.

Por último comentar todos los resultados que obtuvimos al hacer competir machos diferentes entre sí. Comparamos el CL y la MF de estos experimentos con los obtenidos en experimentos en que no hubo competición y, cuando fue posible, con experimentos en que competían dos machos iguales. Los valores que comparamos son los obtenidos tanto por machos como por hembras. También en alguna ocasión comparamos entre sí los resultados de estos experimentos en que empleamos machos distintos, siempre que entre ellos varía un único factor.

La frecuencia de cópula de la hembra podemos compararla siempre con la obtenida cuando se le presentó en solitario cada uno de los dos machos que participan en el experimento. De éstos siempre hay uno que, a solas con ella, presentó mayores MF y menores CL. Éste es al que denominamos el macho competente. La MF de la hembra en competición siempre aumenta con respecto a la que presentaba con el macho menos competente. Es decir, la introducción de un macho competente incita a la hembra a copular. Cuando comparamos el efecto que tiene la introducción de un segundo macho más competente encontramos que se repite el efecto observado cuando competían dos machos iguales: el introducir un segundo macho produce un aumento de la frecuencia de cópula en la hembra wt y un descenso en la hembra cv, aunque este cambio no siempre fue significativo. Es decir, el introducir un segundo macho igual o menos competente (si consideramos los resultados de las competiciones entre machos iguales) causa un efecto diferente

según el genotipo de la hembra. A las hembras wt les incita a copular más frecuentemente, mientras que las cv lo hacen en menor medida. La introducción de un macho más competente incita a la hembra a copular.

La frecuencia de cópula del macho siempre es menor que la que mostraba cuando se encontraba a solas con una determinada hembra. Esto es así en todos los casos, aunque el macho introducido presentase una frecuencia de cópula muy baja, muy inferior a la del primer macho. Es decir, la presencia de un segundo macho, independientemente de si es más o menos capaz, causa que ambos machos copulen con menos frecuencia. Ni siquiera los machos más eficaces son capaces de superar este perjuicio. Esto apunta a que la habilidad de los machos no define la MF que se obtiene, pues ningún macho es capaz de mantener su MF sin competición cuando hay un segundo macho, aún cuando el competidor es claramente inferior.

Podemos analizar el efecto que sobre el número de cópulas de un macho tienen las cualidades del competidor comparando los resultados de todas las competiciones en que interviene un tipo determinado de macho. En este sentido podemos afirmar que para un macho cv es casi indiferente el tipo de macho con el que compite. Un macho cv no muestra variaciones significativas en su MF cuando compite con otro macho cv, con uno wt o con un macho wt sin alas; no copula con mayor o menor frecuencia. En todos los casos su MF es inferior a la que obtienen cuando no hay competencia e indiferenciable entre los casos en que compite. Esto no es así cuando hablamos de machos wt. Un macho wt con alas obtiene mejores resultados cuando compite con un macho cv, con o sin alas, que cuando se enfrenta a un macho wt. Aún así se aparean con menos frecuencia que cuando no hay un segundo macho. Curiosamente un macho wt alado copula con la misma frecuencia ante un segundo macho wt, aunque éste no tenga alas. Es decir, un macho wt alado ofrece la misma competencia que uno no alado, mientras que los machos cv ofrecen menos competencia.

Lo que hace a los machos cv competir con menos eficacia no está relacionado con su capacidad de cantar, pues un macho wt incapaz de emitir el canto presenta batalla de igual a igual a un macho wt alado. No es, por tanto, una diferencia relacionada con esta capacidad lo que afecta a su capacidad para competir y, por extensión, a su habilidad para lograr copular. Muy probablemente la diferencia esté en el estado físico general del macho.

Por último es interesante evaluar si los machos sin alas se benefician de la inclusión en la cámara de un macho alado. Esta es una apreciación mantenida desde hace mucho tiempo (Sturtevant 1915 según Ewing 1961) que se concluye a partir de la observación del comportamiento de los animales (Ewing 1961, 1964).

La manera idónea de verificar esta afirmación hubiera sido comparar la frecuencia de cópula de estos machos en un experimento en que compitieron dos machos sin alas con sus resultados cuando el competidor era alado. Sin embargo esta comparación no es factible pues no realizamos experimentos con dos machos sin alas.

En principio, dado que competir siempre disminuye la MF del macho, lo lógico es pensar que no es así. Sin embargo en estas circunstancias hay que tener en cuenta la dificultad añadida de que hay un competidor. Dos son las aproximaciones que con nuestros resultados se nos ofrecen para contrastar esta hipótesis. En primer lugar podemos ver del total de veces que la hembra copula, en que proporción lo hace con el macho sin alas. Si es muy alta podemos inclinarnos a pensar que el macho sin alas se ve favorecido. La otra posibilidad es analizar el efecto que tiene el pasar de un único macho sin alas a dos machos, uno de ellos alado, sobre el CL de los machos sin alas.

Sólo cuando el macho sin alas es wt y la hembra es wt el macho sin alas se ve favorecido, pues el CL es menor que el del macho sin alas en solitario y del total de veces que la hembra copula la mitad de las veces lo hace con el macho sin alas. En los otros experimentos en que compite un macho sin alas la hembra es cv e, independientemente del genotipo del macho sin alas, éste no se beneficia de la presencia de un macho alado. Los CL son iguales o menores de los que logra el macho sin alas en solitario y el porcentaje de veces que copula él del total de veces que se dio la cópula es relativamente bajo (del 15 al 20%). Por tanto difícilmente podemos afirmar, tal como nos pareció en primera instancia, que los machos sin alas sean capaces de aprovechar la habilidad para el canto del otro competidor en su propio beneficio. En defensa de esta afirmación mantenida clásicamente diremos que los experimentos en que se basa se realizaron exclusivamente con machos wt (Ewing 1961).

5.5.2- ¿Depende la frecuencia de cópula de la propensión a copular de las hembras?

Emplear un modelo de regresión para estimar la probabilidad de copular nos permite solventar el no haber compensado el número de experimentos realizados para cada valor que toma cada una de las variables. A cambio la bondad de la estimación del comportamiento de las moscas cuando no compiten depende completamente de lo preciso que sea el ajuste de la regresión a los datos observados.

Tal como hemos comentado la regresión logística que empleamos ubica adecuadamente alrededor del 73% de nuestros resultados, que al azar se pronostican correctamente el 58% de las ocasiones. Tal como comentamos en los resultados un 15% extra de precisión no parece un gran

logro. Sin embargo comparar directamente las probabilidades estimadas por el modelo con las frecuencias obtenidas por cada clase ofrece mejores resultados (**figura 9.1**).

En lo que se refiere a que no esté compensado el número de experimentos realizados en cada uno de los valores que pueden tomar algunas variables podemos ahora contrastar si no dar importancia a este hecho es muy descabellado. Para ello vamos a comparar las frecuencias de cópula obtenidas para los distintos tipos de experimentos con los valores que estima el modelo para esos mismos casos (la p_{SC} es comparable a la MF) cuando ignoramos el efecto de todas las variables que no son referidas a las moscas. En la **figura 9.3** presentamos las MF para los experimentos sin competición (los mismos de la primera gráfica de la **figura 6.1**) y las MF (p_{SC}) que estima el modelo cuando no se tienen en cuenta el efecto del mes, la hora ni la edad. Como se observa en la gráfica casi todas las conclusiones que sacamos al comparar directamente los experimentos siguen siendo válidas. El cambio de genotipo del macho afecta cuando utilizamos machos con alas y no si carecen de ellas. En sentido contrario el cambio de hembra apenas es significativo cuando los machos tienen alas y adquiere importancia cuando no. Puesto que el modelo solo pronostica la MF de los experimentos sin competición (lo que hemos llamado p_{SC}), sólo podemos realizar este ejercicio de sustraer el efecto de las variables que no queramos considerar en estos experimentos.

La estimación de la frecuencia de cópula cuando los machos compiten la hemos hecho bajo dos hipótesis diferentes: que no se copule más allá del máximo que copula la hembra con el macho más atractivo de los dos o bien que los dos machos copularon en proporción a la habilidad que muestran para hacerlo cuando no hay competición. Por la manera en que se calculan las p_{CC} siempre es mayor la referida a los machos (p_{CC} masculina) y menor la calculada según la hipótesis de que sólo depende de la hembra (p_{CC} femenina). Es importante tener esto en cuenta a la hora de comprender el porqué de los resultados obtenidos.

Dos son los métodos empleados para comparar los valores estimados con los obtenidos experimentalmente. Y aunque las ventajas y desventajas de los métodos ya las hemos comentado en su momento, quizá no esté de más refrescarnos la memoria.

La primera opción es comparar directamente la MF observada para una determinada categoría con las p_{CC} calculadas para esa categoría. La comparación puede ser gráfica o a través de un test estadístico (no paramétrico) que nos dice si la diferencia de los dos valores es significativamente diferente de cero (es decir, nos indica si, como promedio, los dos valores se pueden considerar diferentes). La desventaja de este método es que el valor de la MF depende mucho del número de casos en cada clase, mientras que la p_{CC} que se estima con el modelo es ajena a este problema. Eso causa que en principio ambas difieran bastante, independientemente del modo de cálculo de la p_{CC} .

La segunda opción es comparar el número de casos observados en cada clase con el cálculo de los valores esperados, considerando tanto los experimentos en que se copula como los que no. Los valores esperados se calculan a partir de la p_{CC} estimada y el número de casos de cada clase. Este método presenta ciertas ventajas sobre el antes descrito. La primera es que tanto el número de casos observados como el de esperados depende del número de experimentos de cada clase. Además emplear los casos observados y esperados nos permite tener en cuenta los experimentos en que se dio la cópula y en los que no. De nuevo los casos observados y esperados se pueden comparar de un modo gráfico, que adolece de dos problemas. Por un lado esta comparación se ve afectada por el número de casos por clase y, además, gráficamente se compensan las diferencias positivas y negativas de observados y esperados. Respecto al efecto del número de experimentos por clase hay que tener en cuenta que, dado que cada clase no contiene demasiados experimentos, la mayoría de los puntos se aglutinan en valores bajos tanto del eje x como del y. Esto hace que tengan más influencia en las rectas de regresión las clases con mayor número de casos. También podemos comparar estadísticamente cuánto se parecen los casos observados y esperados a través del cálculo del estadístico χ^2 . Sin embargo su uso tampoco está exento de problemas, puesto que en casi todos los cálculos del estadístico violamos la norma “clásica” de no tener demasiadas celdas con valores esperados inferiores a cinco. Dicha norma ha sido objeto de numerosos estudios (Zar 1999) y varios investigadores mantienen que el test es fiable simplemente con que no haya demasiadas categorías que presenten valores esperados por debajo de dos. El test también se considera fiable cuando se cumplen simultáneamente tres requisitos: que se evalúen más de dos categorías, que el número total de casos supere la decena y que el valor de dividir el cuadrado del número de casos entre las categorías sea superior a diez. Aunque en casi todos los experimentos hay una o varias celdas que presentan valores esperados inferiores a dos, el segundo grupo de condiciones se cumplen sobradamente en todos nuestros cálculos. Aún así realizamos un análisis excluyendo del mismo todas las clases que contenían menos de cuatro casos, reduciendo considerablemente el número de celdas con menos de dos casos esperados. El resultado de estos análisis fue el mismo (comparar las **tablas 10.2 y 10.4**).

Teniendo en cuenta las limitaciones de los análisis observamos que, siguiendo cualquiera de los procedimientos analíticos, el resultado es que suelen ajustar mejor las p_{CC} calculadas según el criterio de que la hembra limita la frecuencia de cópula.

Si comparamos los valores de las dos p_{CC} medias y los valores de la MF observados para los ocho tipos de experimentos con competición (**tabla 10.1**) observamos que, en consonancia con las conclusiones que sacamos al comparar directamente los experimentos, la p_{CC} femenina es mayor

que la MF en aquellos experimentos en que la hembra es cv (recordemos que el aumentar el número de machos causa en ese caso un descenso en la MF), mientras que es menor si la hembra es wt. Por otro lado la p_{CC} masculina fue mayor que la MF en todos los experimentos excepto en dos. Justo en estos dos casos se ajustan según los test χ^2 los valores observados y esperados calculados con esta p_{CC} .

Cuando comparamos estadísticamente la p_{CC} calculada según los machos y la MF encontramos que no pueden ser consideradas iguales en tres de los ocho experimentos. La p_{CC} femenina sólo es diferente de la MF en un caso.

Podemos comprender el porqué de estas diferencias teniendo en cuenta el efecto que tenía pasar de un macho a dos en estos experimentos. Si el paso de un macho a dos aumentaba la MF (hembras wt), entonces es probable que su valor se acerque al de la p_{CC} masculina puesto que, como hemos dicho, el valor de la p_{CC} de los machos es superior a la p_{CC} calculada según la p_{SC} de la hembra.

Este mismo argumento nos explica por qué difiere la p_{CC} masculina de la MF en los experimentos en que se emplea una hembra cv, pues ante esta hembra pasar de un macho a dos hace disminuir su MF (es decir, su MF ante dos machos es menor a la p_{SC} y, con más razón, menor que la p_{CC} masculina).

Tampoco ajustó la p_{CC} masculina a la MF de la hembra en la competición de dos machos wt, uno de ellos sin alas, ante una hembra también wt. Recordemos que, en este caso la frecuencia de cópula de la hembra prácticamente coincidía con la obtenida cuando se le presentaba solamente el macho alado. Es decir que la MF en competición no es diferente a la p_{SC} y, por tanto, inferior a la p_{CC} masculina.

En el lado contrario tenemos que la p_{CC} calculada según la hembra no ajustó a la MF en los experimentos en que dos machos wt compitieron por copular con una hembra wt. En este caso la MF se incrementaba casi significativamente al introducir un segundo macho wt. El incremento del valor de la MF es lo que causa esta diferencia con la p_{CC} femenina.

Es decir, si lo que determina la frecuencia final de cópulas es la habilidad de los machos aumentar su número debería conducir a un incremento de la frecuencia total de cópulas. Si el incremento no se produce podemos descartar que la frecuencia de cópulas dependa de los machos. Del mismo modo, si la frecuencia depende de la hembra la premisa era que la MF no aumentase. Si se produce un aumento significativo, entonces podemos descartar que la MF sólo dependa de la hembra.

Es importante resaltar dos cosas. La primera de ellas es que en la mayoría de los casos se puede decir que la MF no es distinta de ninguna de las dos estimaciones de la probabilidad de

cópula en competición. No podemos, por tanto, decantarnos por ninguna de las dos hipótesis. La otra cosa a tener en cuenta es que los resultados de este análisis debemos contrastarlos con los obtenidos al comparar casos observados y esperados antes de llegar a alguna conclusión.

Mediante los análisis χ^2 observamos que, en los experimentos en que compiten dos machos iguales, los valores esperados calculados con la p_{CC} masculina no ajustan a los observados en ninguno de los cuatro tipos de experimentos. Es decir, en estos experimentos fueron significativamente diferentes los valores esperados de los observados. La p_{CC} media es muy superior en estos cuatro tipos de experimentos a la MF observada.

En cuanto al ajuste de los casos esperados calculados con la p_{CC} femenina a los observados en experimentos con dos machos iguales sólo en el experimento en que competían dos machos wt por copular con una hembra cv resultó no significativo. En este tipo de experimentos la p_{CC} femenina fue mayor que la MF. Recordemos que pasar de un macho a dos siempre reducía la MF de las hembras cv, que es lo que observamos en este caso, es decir, que la hembra copula ante dos machos por debajo de su propensión a hacerlo cuando sólo hay un macho.

En cuanto a los experimentos en que compitieron dos machos diferentes en todos los casos el ajuste fue mejor cuando los valores esperados se calcularon con la p_{CC} calculada según la hembra.

Además de esto, dos de los análisis realizados empleando como casos esperados los calculados con la p_{CC} masculina no fueron significativos. Esto ocurre en los dos únicos casos en que esta p_{CC} fue menor que la MF.

Respecto a los casos esperados calculados con la p_{CC} femenina, ajustan a los observados en tres de los cuatro tipos de experimentos (es decir, no son significativamente diferentes). La única diferencia significativa se produjo en el experimento ♂cv/♂wt sin alas x ♀cv. Este experimento fue uno de los dos en que tampoco ajustó a la MF la p_{CC} según los machos. El valor de la MF es, de hecho, un valor intermedio entre las dos p_{CC} (**tabla 10.1**). Esto nos indica que la explicación más plausible es, en cierto sentido, intermedia entre ambas hipótesis. Es decir, se copula con más frecuencia de la que muestra la hembra con un único macho, pero con menos frecuencia de la que se obtendría si ambos machos copulasen con la frecuencia máxima que les permiten de sus habilidades.

Veamos qué ocurrió cuando comparábamos p_{CC} y MF, para este único caso en que no ajustan los casos esperados calculados con la p_{CC} femenina. En principio, como hemos visto, la p_{CC} media subestimó la MF. Recordemos que la p_{CC} de la hembra es simplemente su p_{SC} con el macho más eficaz y que ésta es la estimación que hace el modelo para la MF sin competición entre, en este

caso, el macho y la hembra cv. Es decir que en este caso nos encontramos con que la MF de la hembra observada en competición es mayor que la que estimamos cuando no hay competición. Esto contradice una de las conclusiones que obtuvimos a raíz de comparar directamente los experimentos, que era que siempre que la hembra cv pasa de enfrentarse a un macho a enfrentarse a dos su MF disminuye.

¿A qué achacar esta falta de coincidencia con las conclusiones que hasta ahora se habían mostrado tan sólidas? ¿Acaso erró el modelo a la hora de pronosticar la MF sin competición? La causa última está en el diseño no compensado de los experimentos. Si atendemos al calendario veremos que en el mes en que se realizaron la mayoría de estos experimentos (σ^{cv}/σ^{wt} sin alas x ϕ^{cv}), junio, apenas hay experimentos de un macho cv frente a una hembra cv. Por lo tanto las MF que comparábamos las obtuvimos de experimentos realizados en meses muy diferentes, por lo que las conclusiones obtenidas en aquellos análisis son matizables. Desde luego el modelo no hace peores pronósticos en este caso y simplemente hemos de tener en cuenta las conclusiones a las que se ha llegado a través de esta aproximación.

5.6- Algunas consideraciones sobre las variables

Al final de la discusión parece apropiado destinar un espacio para comparar los valores que hemos obtenido para diferentes variables con los descritos en la literatura científica, incidiendo en las posibles causas de las diferencias, apreciadas *de visu*, que podemos encontrar.

5.6.1- El tamaño de la mosca

El procedimiento de cultivo de las moscas en condiciones semicontroladas nos ha permitido obtener una variación en su talla suficiente como para emparejar machos de tallas significativamente diferentes entre sí y, al mismo tiempo, que las tallas medias de las moscas entre los cuatro experimentos no sean significativamente distintas.

Sin embargo dentro de cada uno de los cuatro tipos de experimentos sistemáticamente encontramos diferencias de talla entre las tandas. En ese sentido hubiera sido preferible utilizar moscas de tallas más homogéneas, tanto dentro de cada réplica como entre réplicas. Sin embargo, consideramos que necesitábamos variaciones que, tras tres medidas de cada ala, permitiesen asegurar que las tallas de las moscas emparejadas eran significativamente diferentes más del 80% de las ocasiones (esto no lo hemos mostrado). Por eso decidimos crecer las moscas sin controlar con

exactitud el número de larvas por tubo, pese a que en muchas ocasiones se hayan dado diferencias significativas de tamaño entre distintas tandas de un mismo experimento.

Tomar el tamaño del ala es el modo más común de evaluar el tamaño de moscas, siendo también muy frecuente la medida del tórax o el peso seco del animal. En principio todos los sistemas dan cuenta de lo mismo, pues todos correlacionan unos con otros (Reeve y col. 2000).

No hay muchos experimentos en que se mida la longitud del ala como nosotros (Cowley y col. 1986; Partridge, Hoffmann y Jones 1987; Promislow y col. 1998), de modo que sólo en estos casos podremos comparar las tallas de las moscas.

Algunas de las moscas que miden en el primero de los artículos (Partridge, Hoffmann y Jones 1987) son salvajes (es decir, capturadas en la naturaleza) y otras crecidas en cajas poblacionales. Las moscas cultivadas nacen de la puesta de dos días de unas 20 parejas de adultos sobre 10g de trozos de pera. Pero los autores, al contrario que nosotros, tienden a coger descendencia de diferente edad para tener tallas variadas. Para las moscas silvestres las tallas son $1,33\pm 0,13$ mm para el macho (\pm SD) y $1,54\pm 0,15$ mm para la hembra. El coeficiente de variación fue, por tanto, de algo más del 10%. Respecto a las hembras crecidas en laboratorio las tallas fueron de $1,22\pm 0,09$ mm en machos y $1,34\pm 0,11$ mm en hembras en un primer experimento y $1,37\pm 0,06$ mm en machos y $1,50\pm 0,08$ mm en hembras en el segundo. Es decir, sus coeficientes de variación para moscas crecidas en laboratorio oscilan entre el 5 y el 8%.

Nuestras moscas miden, como promedio, $1,347\pm 0,078$ mm los machos y $1,495\pm 0,085$ mm las hembras. Los coeficientes de variación son, por tanto, algo menores al 6%. Es decir, la talla de nuestras moscas es igual o menor que la de las moscas silvestres y dentro del mismo rango que las cultivadas. Por otro lado, como es esperable, la variabilidad es muy inferior a la de las moscas tomadas en la naturaleza e, incluso, algo menor que las moscas del cultivo.

No podemos comparar directamente nuestras mediciones con las de ningún otro artículo publicado. Sin embargo presentamos una comparativa (**tabla B**) que tiene en cuenta el modo de cultivo y la medida que se toma. El modo de comparar medidas tan diferentes es emplear el coeficiente de variación (cuánto varían las medidas en torno a la media). Las medidas de alas que obtuvimos son, desde luego, más variables que en un medio muy controlado y algo menores que la mayoría de las conseguidas en grandes cajas poblacionales.

5.6.2- Tiempo hasta la cópula (CL)

Comparar los valores de CL obtenidos en este trabajo tanto para los experimentos con competición como para aquellos en que no se compete no es tarea fácil, puesto que la variedad de recintos donde se han obtenido estos valores en la bibliografía es muy amplia. Aun así en la **tabla C** presentamos algunos de los CL que se registran en distintos experimentos. Desde luego, son muchas las diferencias entre estos experimentos y los nuestros. Si nos fijamos en los experimentos realizados en cámara de un tamaño parecido a la nuestra observamos que nuestros CL son menores, quizá debido a que incluimos comida en las cámaras (Lichtenberger y col. 1989). Cuando las cámaras son más pequeñas las velocidades de cópula son algo mayores debido al mayor contacto entre los animales. En los experimentos realizados en tubo, si no tenemos en cuenta en el que se emplean moscas silvestres, los tiempos son mucho mayores, posiblemente por el efecto contrario al antes descrito.

Es interesante darse cuenta de que, respecto a los otros trabajos en que se realizan en las mismas condiciones experimentos con uno y varios machos (Ewing y Ewing 1984; Crossley y Wallace 1987; Scott 1994) sólo en nuestro caso parece que la competición reduce el CL. De hecho en los tres experimentos se menciona explícitamente que las diferencias fueron significativas al incrementar la competencia. En nuestro caso, sin embargo, el cambio no es significativo. Es difícil aventurar ninguna hipótesis sobre el porqué de tales diferencias. Quizá pudiera entenderse este hecho como que las habilidades de los machos para lograr copular disminuyen al competir. Sin embargo la MF en el trabajo en que también se considera (Scott 1994) aumentó, tal como comentamos inmediatamente.

5.6.3- Frecuencia de cópula (MF)

Ocurre lo mismo que con el CL, que al ser las condiciones tan dispares es difícil hacerse una idea clara. Observando la **tabla D** encontramos que nuestros valores de MF en cámara son bastante superiores a los descritos en la bibliografía. Es especialmente marcado este efecto al referirnos a machos sin alas (Ewing 1964; Scott 1994). Atendiendo al trabajo en que se incrementa la competencia de los machos (Scott 1994) observamos que, como en nuestro caso, se incrementa considerable la MF con dos machos. Sin embargo (tabla C) en su caso decrecía considerablemente el CL, mientras que en el nuestro no varía significativamente.

Respecto a la frecuencia de cópula en experimentos realizados en tubos las diferencias son notables con otros autores. Sobre todo porque en tiempos de observación muy limitados (30 minutos) obtienen los mismos valores de MF que obtenemos nosotros en más de un día. Es

importante notar que, excepto cuando intervienen moscas silvestres, nuestros experimentos o bien incluyen un único macho o bien uno de los machos y la hembra presenta una mutación. Este hecho, desde luego, complica cualquier posible comparación.

5.6.4- La teórica variable control (tanda/mes)

Desde luego estas dos variables no se refieren a lo mismo, pero la idea inicial es que mes representará en los experimentos analizados en la segunda parte lo que representaba la variable tanda en la primera. Tanda se refería a un grupo de vírgenes, machos y hembras, nacidos el mismo día y de los mismos tubos. Es decir, pretendía controlar el efecto en el comportamiento de las moscas que pudieran causar las pequeñas fluctuaciones en las condiciones de cultivo. Además de esto, por ser tandas sucesivas, los experimentos se llevaban a cabo en distintas semanas, uniéndose a las variaciones en el cultivo variaciones debidas a la época del año, en este caso muy posiblemente mínimas.

En principio nuestra intención fue emplear de nuevo esta variable, en referencia a la situación de tubo y fecha en que fueron recogidas las vírgenes. Pero en experimentos realizados a lo largo de un año y medio el número de tandas empleada superaba el medio centenar. Es decir, la variable podía tomar un número muy grande de valores. Esto complicaba el uso del modelo que pronostica probabilidades de cópula por dos razones. Primero, porque manejar cincuenta coeficientes en la ecuación dificultaba mucho el cálculo de las p_{SC} . Y segundo, el número de experimentos por tanda era relativamente reducido, es decir, cada clase que empleábamos para calcular la MF hubiera contado realmente con pocos experimentos.

Tratando de actuar de un modo parecido empleamos la variable "mes". En un principio utilizamos una por cada uno de los meses en que realizamos experimentos, es decir, había MAYO-1 y MAYO-2. Pasamos entonces a definir la variable año. Esto nos permitía considerar un posible efecto, éste más previsible, de modificaciones causadas por la época del año, y no referidas a las condiciones de cultivo. La variable año no tiene ninguna significación, y por ello no la hemos considerado en ningún momento. En virtud de esta falta de significación podemos afirmar que los resultados del mismo mes, aun en diferentes años, presentan características comunes.

De todos modos no descartamos que parte del efecto de la variable "mes" sobre la p_{SC} se deba a variaciones en las condiciones de cultivo. Sobre todo porque en algunos casos (por ejemplo el mes de junio) el comportamiento no es armónico, es decir, no sigue la tendencia del mes anterior o posterior. Eso nos hace dudar de que el efecto no sólo se deba a la época del año sino también a variaciones no controladas relacionadas con el cultivo de las moscas.

CONCLUSIONES

Respecto a los dos objetivos planteados, certificar qué las hembras escogen su pareja y analizar qué características del macho los hacen atractivos, podemos afirmar que:

1- No podemos asegurar que las hembras escojan su pareja. Pero sí que cuando se le presentan varios machos es su propensión a copular lo que determina que el apareamiento se dé o no. La hembra no se limita a aparearse con los machos en función de lo atractivos que le resultan. Esto es, desde luego, una condición previa para que la hembra pueda elegir.

2- No podemos certificar que en el proceso de selección a que se somete al macho la hembra evalúe sus características y actúe en consecuencia. Que llegue a copular un macho u otro puede deberse, simplemente, a diferencias en el estado físico de las moscas. Es necesario un modelo que precise en que proporción copularía cada uno de los machos si sólo dependiera de su habilidad para fomentar la cópula.

3- El atractivo de los machos de mayor tamaño depende del tamaño de la hembra. Es decir, es su tamaño en relación con el de la hembra lo que les hace más o menos atractivos. Cuanto más parecidos son en tamaño, mayores son sus posibilidades de aparearse.

4- El protocolo experimental en el que mejor se refleja el atractivo de los machos de mayor tamaño es aquel en que las hembras pueden optar entre un número elevado de machos y se analiza el tamaño de la descendencia para ver si ellas han preferido cruzarse con los de mayor tamaño.

5- En los experimentos en que se sitúa un macho y una hembra en la cámara de cortejo los machos de mayor tamaño relativo tienden a copular antes y con mayor frecuencia. Sin embargo el protocolo no nos permite distinguir si la hembra está eligiendo con quién se aparee o simplemente elige aparearse.

BIBLIOGRAFÍA

- T. Aigaki, M. Bienz, P.S. Chen y E. Kubli** (1989). Sex peptide that is involved in the regulation of sexual behavior of female *Drosophila melanogaster*. *Zool Sci* 6: 1196.
- M. Andersson** (1982). Female choice selects for extreme tail length in a widowbird *Euplectes*-*progne*. *Nature* 299: 818-820.
- M. Andersson** (1994). Sexual selection, 2* edn (Princeton, New Jersey, Princeton University Press).
- J.A. Andres y G. Arnqvist** (2001). Genetic divergence of the seminal signal-receptor system in houseflies: The footprints of sexually antagonistic coevolution? *P Roy Soc B-Biol Sci* 268: 399-405.
- C. Antony y J.M. Jallon** (1982). The chemical basis for sex recognition in *Drosophila melanogaster*. *J Insect Physiol* 28: 873-880.
- G. Arnqvist y T. Nilsson** (2000). The evolution of polyandry: Multiple mating and female fitness in insects. *Anim Behav* 60: 145-164.
- J. Aspi y A. Hoikkala** (1995). Male mating success and survival in the field with respect to size and courtship song characters in *Drosophila littoralis* and *D. montana* (Diptera: Drosophilidae). *J Insect Behav* 8: 67-87.
- T.C.M. Bakker y A. Pomiankowski** (1995). The genetic basis of female mate preferences. *J Evol Biol* 8: 129-171.
- A.J. Bateman** (1948). Intra-sexual selection in *Drosophila*. *Heredity* 2: 349-368
- D.J. Begun y C.F. Aquadro** (1993). African and North American populations of *Drosophila melanogaster* are very different at the DNA level. *Nature* 365: 548-550.
- G.E. Belovsky** (1984). Herbivore optimal foraging a comparative test of 3 models. *Am Nat* 124: 97-115.
- H.C. Bennet-Clark y A.W. Ewing** (1969). Pulse interval as a critical parameter in the courtship song of *Drosophila melanogaster*. *Anim Behav* 17: 755-759.
- A.T.D. Bennett, I.C. Cuthill, J.C. Partridge y K. Lunau** (1997). Ultraviolet plumage colors predict mate preferences in starlings. *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 8618-8621.
- W.U. Blanckenhorn, D.J. Hosken, O.Y. Martin, C. Reim, Y. Teuschl y P.I. Ward** (2002). The costs of copulating in the dung fly *Sepsis cynipsea*. *Behavioral Ecology* 13: 353-358.
- R. Brooks y M.D. Jennions** (1999). The dark side of sexual selection. *Trends Ecol Evol* 14: 336-337.
- E.H. Bryant, A. Kence y K.T. Kimball** (1980). A rare male advantage in the house fly *Musca domestica* induced by wing clipping and some general considerations for *Drosophila*. *Genetics* 96: 975-994.

- C.D. Bull, N.B. Metcalfe y M. Mangel** (1996). Seasonal matching of foraging to anticipated energy requirements in anorexic juvenile salmon. *P Roy Soc B-Biol Sci* 263: 13-18.
- B. Burnet, K. Connolly y M. Mallinson** (1974). Activity and sexual behavior of neurological mutants in *drosophila-melanogaster*. *Behav Genet* 4: 227-235.
- P.G. Byrne y J.D. Roberts** (2000). Does multiple paternity improve fitness of the frog *Crinia georgiana*? *Evolution* 54: 968-973.
- P.G. Byrne y W.R. Rice** (2006). Evidence for adaptive male mate choice in the fruit fly *Drosophila melanogaster*. *Proc Biol Sci* 273: 917-922.
- P. Casares y M.C. Carracedo** (1987). Pupation height in *drosophila* sex differences and influence of larval developmental time. *Behav Genet* 17: 523-535.
- P. Casares, M.C. Carracedo, R. Pineiro, E. San Miguel y L. Garcia-Florez** (1992). Genetic basis for female receptivity in *Drosophila melanogaster*: a diallel study. *Heredity* 69 (Pt 5): 400-405.
- P. Casares, M.C. Carracedo, E. San Miguel, R. Pineiro y L. Garcia-Florez** (1993). Male mating speed in *Drosophila melanogaster*: differences in genetic architecture and in relative performance according to female genotype. *Behav Genet* 23: 349-358.
- P. Casares, M.C. Carracedo, B. Del Rio, R. Pineiro, L. Garcia-Florez y A.R. Barros** (1998). Disentangling the effects of mating propensity and mating choice in *Drosophila*. *Evolution* 52: 126-133.
- T. Chapman, L.F. Liddle, J.M. Kalb, M.F. Wolfner y L. Partridge** (1995). Cost of mating in *Drosophila melanogaster* females is mediated by male accessory gland products. *Nature* 373: 241-244.
- T. Chapman, G. Arnqvist, J. Bangham y L. Rowe** (2003). Sexual conflict. *Trends in Ecology & Evolution* 18: 41-47.
- S.F. Chenoweth y M.W. Blows** (2006). Dissecting the complex genetic basis of mate choice. *Nat Rev Genet* 7: 681-692.
- A.K. Chippindale, J.R. Gibson y W.R. Rice** (2001). Negative genetic correlation for adult fitness between sexes reveals ontogenetic conflict in *Drosophila*. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 1671-1675.
- A.G. Clark, M. Aguade, T. Prout, L.G. Harshman y C.H. Langley** (1995). Variation in Sperm Displacement and Its Association with Accessory Gland Protein Loci in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 139: 189-201.
- M. Cobb** (1996). Genotypic and phenotypic characterization of the *Drosophila melanogaster* olfactory mutation indifferent. *Genetics* 144: 1577-1587.
- M. Cobb y J.-F. Ferveur** (1996). Female mate discrimination or male responses to female stimulation? . *Evolution* 50: 1719-1721.

- C.A. Conley, R. Silburn, M.A. Singer, A. Ralston, D. Rohwer-Nutter, D.J. Olson, W. Gelbart y S.S. Blair** (2000). Crossveinless 2 contains cysteine-rich domains and is required for high levels of BMP-like activity during the formation of the cross veins in *Drosophila*. *Development* 127: 3947-3959.
- R. Cook** (1975). Courtship of *drosophila-melanogaster* rejection without extrusion. *Behaviour* 52: 154-171.
- D.E. Cowley, W.R. Atchley y J.J. Rutledge** (1986). Quantitative genetics of *drosophila-melanogaster* i sexual dimorphism in genetic parameters for wing traits. *Genetics* 114: 549-566.
- J.A. Coyne y E. Beecham** (1987). Heritability of two morphological characters within and among natural populations of *drosophila-melanogaster*. *Genetics* 117: 727-738.
- J.A. Coyne, A.P. Crittenden y K. Mah** (1994). Genetics of a pheromonal difference contributing to reproductive isolation in *Drosophila*. *Science* 265: 1461-1464.
- J.A. Coyne y R. Oyama** (1995). Localization of pheromonal sexual dimorphism in *Drosophila melanogaster* and its effect on sexual isolation. *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 9505-9509.
- J.A. Coyne, C. Wicker-Thomas y J.M. Jallon** (1999). A gene responsible for a cuticular hydrocarbon polymorphism in *Drosophila melanogaster*. *Genet Res* 73: 189-203.
- S. Crossley y B. Wallace** (1987). The effects of crowding on courtship and mating success in *drosophila-melanogaster*. *Behav Genet* 17: 513-522.
- H.S. Crudgington y M.T. Siva-Jothy** (2000). Genital damage, kicking and early death. *Nature* 407: 855-856.
- L.B. da Silva y V.L.S. Valente** (2001). Body size and mating success in *Drosophila willistoni* are uncorrelated under laboratory conditions. *J Genet* 80: 77-81.
- J.S. de Belle y M. Heisenberg** (1996). Expression of *Drosophila* mushroom body mutations in alternative genetic backgrounds: a case study of the mushroom body miniature gene (*mbm*). *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 9875-9880.
- J.S. de Belle** (2002). Unifying the genetics of behavior. *Nat Genet* 31: 329-330.
- C. Derroncourt-Sterpin, J. Lechien y A. Elens** (1991). Sex ratio relative frequency and mating success in two genotypes of *drosophila-melanogaster*. *Behav Genet* 21: 471-486.
- J. Diaz-Benjumea, M.A.F. Gonzalez Gaitan y A. Garcia-Bellido** (1989). Developmental genetics of the wing vein pattern of *drosophila*. *Genome* 31: 612-619.
- M.E. Dillon y M.R. Frazier** (2006). *Drosophila melanogaster* locomotion in cold thin air. *J Exp Biol* 209: 364-371.
- M.A. Dow y F. Von Schilcher** (1975). Aggression and mating success in *drosophila-melanogaster*. *Nature* 254: 511-512.
- S.W. Emmons y J. Lipton** (2003). Genetic basis of male sexual behavior. *Journal of Neurobiology* 54: 93-110.

- A.W. Ewing** (1961). Body size and courtship behaviour in *Drosophila melanogaster*. *Anim Behav* 9: 93-99.
- A.W. Ewing** (1964). The influence of wing area on the courtship behaviour of *Drosophila melanogaster*. *Anim Behav* 12: 316-320.
- A.W. Ewing** (1983). Functional aspects of *Drosophila* courtship. *Biol Rev* 58: 275--292.
- L.S. Ewing y A.W. Ewing** (1984). Courtship in *drosophila-melanogaster* behavior of mixed-sex groups in large observation chambers. *Behaviour* 90: 184-202.
- S. Fang, A. Takahashi y C.I. Wu** (2002). A mutation in the promoter of desaturase 2 is correlated with sexual isolation between *Drosophila* behavioral races. *Genetics* 162: 781-784.
- J.-F. Ferveur** (1997). The pheromonal role of cuticular hydrocarbons in *Drosophila melanogaster*. *Bioessays* 19: 353-358.
- K.D. Finley, B.J. Taylor, M. Milstein y M. McKeown** (1997). Dissatisfaction, a gene involved in sex-specific behavior and neural development of *Drosophila melanogaster*. *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 913-918.
- R.A. Fisher** (1915). The evolution of sexual preference. *Eugenics Rev* 7: 184-192.
- R.A. Fisher** (1958). The genetical theory of natural selection (New York, Dover).
- M.J. Fitzpatrick** (2004). Pleiotropy and the genomic location of sexually selected genes. *Am Nat* 163: 800-808.
- J.C. Fogleman** (1979). Oviposition site preference for substrate temperature in *drosophila-melanogaster*. *Behav Genet* 9: 407-412.
- S.C. Ford, L.M. Napolitano, S.P. McRobert y L. Tompkins** (1989). Development of behavioral competence in young *drosophila-melanogaster* adults. *J Insect Behav* 2: 575-588.
- K. Fowler y L. Partridge** (1986). Variation in male fertility explains an apparent effect of genotypic diversity on success in larval competition in *drosophila-melanogaster*. *Heredity* 57: 31-36.
- U. Friberg y G. Arnqvist** (2003). Fitness effects of female mate choice: Preferred males are detrimental for *Drosophila melanogaster* females. *Journal of Evolutionary Biology* 16: 797-811.
- C.R. Gallistel, P. Shizgal y J.S. Yeomans** (1981). A portrait of the substrate for self-stimulation. *Psychol Rev* 88: 228-273.
- C.R. Gallistel** (1994). Foraging for brain stimulation: toward a neurobiology of computation. *Cognition* 50: 151-170.
- S.W. Gangestad y R. Thornhill** (1998). The analysis of fluctuating asymmetry redux: the robustness of parametric statistics. *Anim Behav* 55: 497-501.

- P. Gibert, R.B. Huey y G.W. Gilchrist** (2001). Locomotor performance of *Drosophila melanogaster*: Interactions among developmental and adult temperatures, age, and geography. *Evolution* 55: 205-209.
- J.M. Gleason, S.V. Nuzhdin y M.G. Ritchie** (2002). Quantitative trait loci affecting a courtship signal in *Drosophila melanogaster*. *Heredity* 89: 1-6.
- J.M. Gleason y M.G. Ritchie** (2004). Do quantitative trait loci (QTL) for a courtship song difference between *Drosophila simulans* and *D. sechellia* coincide with candidate genes and intraspecific QTL? *Genetics* 166: 1303-1311.
- J.M. Gleason** (2005). Mutations and natural genetic variation in the courtship song of *Drosophila*. *Behav Genet* 35: 265-277.
- P.W. Glimcher** (2002). Decisions, decisions, decisions: Choosing a biological science of choice. *Neuron* 36: 323-332.
- A.J. Greenberg, J.R. Moran, J.A. Coyne y C.I. Wu** (2003). Ecological adaptation during incipient speciation revealed by precise gene replacement. *Science* 302: 1754-1757.
- M.H. Gromko y P.D. Gerhart** (1984). Increased density does not increase re mating frequency in laboratory populations of *drosophila-melanogaster*. *Evolution* 38: 451-455.
- J.C. Hall** (1994). The mating of a fly. *Science* 264: 1702-1714.
- M. Hall, A.K. Lindholm y R. Brooks** (2004). Direct selection on male attractiveness and female preference fails to produce a response. *BMC Evol Biol* 4: 1.
- T.R. Halliday** (1983). The study of mate choice. En "Mate choice." P. Bateson, ed. (Cambridge, UK, Cambridge University Press), pp. 3-32.
- D.G.C. Harper** (1982). Competitive foraging in mallards *anas-platyrhynchos* ideal free ducks. *Anim Behav* 30: 575-584.
- L.G. Harshman y T. Prout** (1994). Sperm displacement without sperm transfer in *Drosophila melanogaster*. *Evolution* 48: 758-766.
- S.N. Hegde y M.S. Krishna** (1997). Size-assortative mating in *Drosophila malerkotliana*. *Anim Behav* 54: 419-426.
- S.N. Hegde y M.S. Krishna** (1999). Body size and fitness characters in *Drosophila malerkotliana*. *Curr Sci* 77: 178-179.
- L. Heisler, M.B. Andersson, S.J. Arnold, C.R. Boake, G. Borgia, G. Hausfater, M. Kirkpatrick, R. Lande, J. Maynard Smith, P. O'Donald, R. Thornhill, F.J. Weissing y** (1987). The evolution of mating preferences and sexually selected traits. En "Sexual Selection: Testing the Alternatives", J.W. Bradbury y M.B. Andersson, eds. (New York, Wiley), pp. 97-118
- A.A. Hoffmann** (1987). Territorial encounters between *drosophila* males of different sizes. *Anim Behav* 35: 1899-1901.

- A.A. Hoffmann** (1987). A laboratory study of male territoriality in the sibling species *Drosophila melanogaster* and *Drosophila simulans*. *Anim Behav* 35: 807-818.
- A.A. Hoffmann** (1994). Genetic analysis of territoriality in *Drosophila melanogaster*. En "Quantitative genetic studies of behavioral evolution", C.R.B. Boake, ed., pp. 188-205.
- B. Holland y W.R. Rice** (1998). Perspective: Chase-away sexual selection: Antagonistic seduction versus resistance. *Evolution* 52: 1-7.
- B. Holland y W.R. Rice** (1999). Experimental removal of sexual selection reverses intersexual antagonistic coevolution and removes a reproductive load. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 5083-5088.
- H. Hollocher, C.T. Ting, M.L. Wu y C.I. Wu** (1997). Incipient speciation by sexual isolation in *Drosophila melanogaster*: extensive genetic divergence without reinforcement. *Genetics* 147: 1191-1201.
- A.E. Houde** (1994). Effect of artificial selection on male colour patterns on mating preference of female guppies. *P Roy Soc B-Biol Sci* 256: 125-130.
- J.M. Jallon** (1984). A few chemical words exchanged by *Drosophila* during courtship and mating. *Behav Genet* 14: 441-478.
- M.D. Jennions y M. Petrie** (2000). Why do females mate multiply? A review of the genetic benefits. *Biol Rev* 75: 21-64.
- A. Joshi, M.H. Do y L.D. Mueller** (1999). Poisson distribution of male mating success in laboratory populations of *Drosophila melanogaster*. *Genet Res* 73: 239-249.
- M.O. Kauer y C. Schlotterer** (2004). An analysis of genetic differentiation among assortatively mating *Drosophila melanogaster* in Zimbabwe. *J Evol Biol* 17: 493-500.
- P.W.E. Kearns, I.P.M. Tomlinson, C.J. Veltman y P. O'Donald** (1992). Non-random mating in *Adalia bipunctata* the two-spot ladybird ii further tests for female mating preference. *Heredity* 68: 385-389.
- A. Kence** (1981). The rare male advantage in *Drosophila* a possible source of bias in experimental design. *Am Nat* 117: 1027-1028.
- A. Kence** (1986). Spurious frequency-dependent fitness in *Drosophila*: an artifact caused by marking procedures. *Am Nat* 127: 716-720.
- M. Kirkpatrick** (1996). Good genes and direct selection in the evolution of mating preferences. *Evolution* 50: 2125-2140.
- D.G. Kleinbaum y M.G. Klein** (2002). Logistic regression: a self-learning text, 2nd Edition (New York Springer).
- P. Knoppien** (1984). The rare male mating advantage an artifact caused by marking procedures. *Am Nat* 123: 862-866.
- A. Kopp, I. Duncan y S.B. Carroll** (2000). Genetic control and evolution of sexually dimorphic characters in *Drosophila*. *Nature* 408: 553-559.

- J.R. Krebs, J.T. Erichsen, M.I. Webber y E.L. Charnov** (1977). Optimal prey selection in the great tit *parus-major*. *Anim Behav* 25: 30-38.
- C.P. Kyriacou y J.C. Hall** (1982). The function of courtship song rhythms in *drosophila*. *Anim Behav* 30: 794-801.
- C.P. Kyriacou y J.C. Hall** (1984). Learning and memory mutations impair acoustic priming of mating behavior in *drosophila*. *Nature* 308: 62-65.
- A. Lefranc y J. Bundgaard** (2000). The influence of male and female body size on copulation duration and fecundity in *Drosophila melanogaster*. *Hereditas* 132: 243-247.
- F.O. Lehmann** (1999). Ambient temperature affects free-flight performance in the fruit fly *Drosophila melanogaster*. *J Comp Physiol B* 169: 165-171.
- M. Lichtenberger, J. Lechien y A. Elens** (1989). Influence of food on frequency-dependent sexual activity of *drosophila-melanogaster*. *Behav Genet* 19: 575-592.
- J. Liimatainen, A. Hoikkala, J. Aspi y P. Welbergen** (1992). Courtship in *drosophila-montana* the effects of male auditory signals on the behaviour of flies. *Anim Behav* 43: 35-48.
- C.E. Long, T.A. Markow y P. Yaeger** (1980). Relative male age fertility and competitive mating success in *drosophila-melanogaster*. *Behav Genet* 10: 163-170.
- T.F. Mackay** (2001). Quantitative trait loci in *Drosophila*. *Nat Rev Genet* 2: 11-20.
- T.F. Mackay, S.L. Heinsohn, R.F. Lyman, A.J. Moehring, T.J. Morgan y S.M. Rollmann** (2005). Genetics and genomics of *Drosophila* mating behavior. *Proc Natl Acad Sci USA* 102 Suppl 1: 6622-6629.
- M. Majerus, P. O'Donald y J. Weir** (1982). Evidence for preferential mating in *adalia-bipunctata*. *Heredity* 49: 37-50.
- M.E.N. Majerus, P. O'Donald, P.W.E. Kearns y H. Ireland** (1986). Genetics and evolution of female choice. *Nature* 321: 164-167.
- A. Manning** (1961). The effects of artificial selection for mating speed in *Drosophila melanogaster*. *Anim Behav* 9: 82-92.
- A. Manning** (1967). Antennae and sexual receptivity in *Drosophila melanogaster* females. *Science* 158: 136-137.
- A. Manning** (1968). The effects of artificial selection for slow mating in *Drosophila simulans*. *Anim Behav* 16: 108-113.
- F. Marcillac, F. Bousquet, J. Alabouvette, F. Savarit y J.F. Ferveur** (2005). A mutation with major effects on *Drosophila melanogaster* sex pheromones. *Genetics* 171: 1617-1628.
- F. Marcillac, Y. Grosjean y J.F. Ferveur** (2005). A single mutation alters production and discrimination of *Drosophila* sex pheromones. *Proc Biol Sci* 272: 303-309.

- T.A. Markow** (1978). A test for the rare male mating advantage in coisogenic strains of *Drosophila melanogaster*. *Genet Res* 32: 123-128.
- T.A. Markow** (1980). Rare male advantages among *Drosophila* of the same laboratory strain. *Behav Genet* 10: 553-556.
- T.A. Markow** (1987). Behavioral and sensory basis of courtship success in *Drosophila melanogaster*. *Proc Natl Acad Sci USA* 84: 6200-6204.
- T.A. Markow** (1988). Reproductive behavior of *Drosophila melanogaster* and *D. nigrospiracula* in the field and in the laboratory. *J Comp Psychol* 102: 169-173.
- T.A. Markow y J.P. Ricker** (1992). Male size developmental stability and mating success in natural populations of three *Drosophila*-spp. *Heredity* 69: 122-127.
- T.A. Markow y S. Sawka** (1992). Dynamics of mating success in experimental groups of *Drosophila melanogaster* diptera drosophilidae. *J Insect Behav* 5: 375-383.
- T.A. Markow** (1996). Evolution of *Drosophila* Mating Systems. *Evol Biol* 29: 73-106.
- T.A. Markow, D. Bustoz y S. Pitnick** (1996). Sexual selection and a secondary sexual character in two *Drosophila* species. *Anim Behav* 52: 759-766.
- T.A. Markow** (2000). Forced matings in natural populations of *Drosophila*. *Am Nat* 156: 100-103.
- O.Y. Martin y D.J. Hosken** (2003). Costs and benefits of evolving under experimentally enforced polyandry or monogamy. *Evolution* 57: 2765-2772.
- K. McCabe, D. Houser, L. Ryan, V. Smith y T. Trouard** (2001). A functional imaging study of cooperation in two-person reciprocal exchange. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 11832-11835.
- S.P. McRobert, F.B. Schnee y L. Tompkins** (1995). Selection for Increased Female Sexual Receptivity in Raised Stocks of *Drosophila melanogaster*. *Behav Genet* 25: 303-309.
- T. Micceri** (1989). The unicorn the normal curve and other improbable creatures. *Psychol Bull* 105: 156-166.
- A.J. Moehring y T.F. Mackay** (2004). The quantitative genetic basis of male mating behavior in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 167: 1249-1263.
- A.P. Moller y R.V. Alatalo** (1999). Good-genes effects in sexual selection. *P Roy Soc B-Biol Sci* 266: 85-91.
- W.S. Neckameyer** (1998). Dopamine and mushroom bodies in *Drosophila*: Experience-dependent and -independent aspects of sexual behavior. *Learn Memory* 5: 157-165.
- E.E. Nilsson, Z. Asztalos, T. Lukacsovich, W. Awano, K. Usui-aoki y D. Yamamoto** (2000). Fruitless is in the regulatory pathway by which ectopic mini-white and transformer induce bisexual courtship in *Drosophila*. *J Neurogenet* 13: 213-232.

- F.M. Norry, J.C. Vilardi, J.J. Fanara y E. Hasson** (1995). Courtship success and multivariate analysis of sexual selection on morphometric traits in *Drosophila buzzatii* (Diptera: Drosophilidae). *J Insect Behav* 8: 219-229.
- K.M. O'Dell** (2003). The voyeurs' guide to *Drosophila melanogaster* courtship. *Behav Proc* 64: 211-223.
- L. Partridge** (1980). Mate choice increases a component of offspring fitness in fruit flies *drosophila-melanogaster*. *Nature* 283: 290-291.
- L. Partridge y M. Farquhar** (1983). Lifetime mating success of male fruit flies *drosophila-melanogaster* is related to their size. *Anim Behav* 31: 871-877.
- L. Partridge y A. Garner** (1983). Failure to replicate the results on an experiment of the rare male effect in *drosophila-melanogaster*. *Am Nat* 122: 422-427.
- L. Partridge y T. Halliday** (1984). Mating patterns and mate choice. En "Behavioural Ecology: an Evolutionary Approach, 2nd Edition", J.R. Krebs y D. N. B, eds. (Sunderland, Mass., Sinauer Associates, Inc. Publishers), pp. 222-250.
- L. Partridge y W.G. Hill** (1984). Mechanisms for frequency-dependent mating success. *Biol J Linn Soc* 23: 113-132.
- L. Partridge, K. Fowler, S. Trevitt y W. Sharp** (1986). An examination of the effects of males on the survival and egg-production rates of female *drosophila-melanogaster*. *J Insect Physiol* 32: 925-930.
- L. Partridge, A. Ewing y A. Chandler** (1987). Male size and mating success in *drosophila-melanogaster* the roles of male and female behavior. *Anim Behav* 35: 555-562.
- L. Partridge, A. Green y K. Fowler** (1987). Effects of egg production and of exposure to males on female survival in *drosophila-melanogaster*. *J Insect Physiol* 33: 745-750.
- L. Partridge, A. Hoffmann y J.S. Jones** (1987). Male size and mating success in *drosophila-melanogaster* and *drosophila-pseudoobscura* under field conditions. *Anim Behav* 35: 468-476.
- L. Partridge** (1989). Frequency-dependent mating preferences in female fruitflies? *Behav Genet* 19: 725-728.
- L. Partridge y K. Fowler** (1990). Non-mating costs of exposure to males in female *drosophila-melanogaster*. *J Insect Physiol* 36: 419-426.
- J.M. Pechine, F. Perez, C. Antony y J.M. Jallon** (1985). A further characterization of *Drosophila* cuticular monoenes using a mass spectrometry method to localize double bonds in complex mixtures. *Anal Biochem* 145: 177-182.
- M. Petrie** (1983). Mate choice in role-reversed species. En "Mate choice." P. Bateson, ed. (Cambridge, UK, Cambridge University Press), pp. 167-180.
- R. Piñeiro, M.C. Carracedo, J.I. Izquierdo y P. Casares** (1993). Bidirectional selection for female receptivity in *Drosophila melanogaster*. *Behav Genet* 23: 77-83.

- S. Pitnick** (1991). Male size influences mate fecundity and remating interval in *Drosophila melanogaster*. *Anim Behav* 41: 735-746.
- S. Pitnick y T.A. Markow** (1994). Large-male advantages associated with costs of sperm production in *Drosophila hydei*, a species with giant sperm. *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 9277-9281.
- M.L. Platt y P.W. Glimcher** (1999). Neural correlates of decision variables in parietal cortex. *Nature* 400: 233-238.
- M. Polak y T.A. Markow** (1995). Effect of ectoparasitic mites on sexual selection in a Sonoran desert fruit fly. *Evolution* 49: 660-669.
- A. Pomiankowski, Y. Iwasa y S. Nee** (1991). The evolution of costly mate preferences i fisher and biased mutation. *Evolution* 45: 1422-1430.
- C.M. Pomory y v.p. Fuente: 0003-3472** (1997). Fluctuating asymmetry: Biological relevance or statistical noise? . *Anim Behav* 53: 225-227.
- T. Price, D. Schluter y N.E. Heckman** (1993). Sexual selection when the female directly benefits. *Biol J Linn Soc* 48: 187-211.
- D.E.L. Promislow, E.A. Smith y L. Pearse** (1998). Adult fitness consequences of sexual selection in *Drosophila melanogaster*. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 10687-10692.
- T. Prout y A.G. Clark** (2000). Seminal fluid causes temporarily reduced egg hatch in previously mated females. *P Roy Soc B-Biol Sci* 267: 201-203.
- M.W. Reeve, K. Fowler y L. Partridge** (2000). Increased body size confers greater fitness at lower experimental temperature in male *Drosophila melanogaster*. *J Evol Biol* 13: 836-844.
- W.R. Rice** (1992). Sexually antagonistic genes experimental evidence. *Science* 256: 1436-1439.
- W.R. Rice** (1996). Sexually antagonistic male adaptation triggered by experimental arrest of female evolution. *Nature* 381: 232-234.
- W.R. Rice** (1998). Male fitness increases when females are eliminated from gene pool: implications for the Y chromosome. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 6217-6221.
- L. Rowe** (1994). The costs of mating and mate choice in water striders. *Anim Behav* 48: 1049-1056.
- M.J. Ryan** (1990). Signal, species and sexual selection. *Am Sci* 78 46-52.
- M.J. Ryan y A.S. Rand** (1993). Species recognition and sexual selection as a unitary problem in animal communication. *Evolution* 47: 647-657.
- M.J. Ryan** (1998). Sexual selection, receiver biases, and the evolution of sex differences. *Science* 281: 1999-2003.
- F. Rybak, G. Sureau y T. Aubin** (2002). Functional coupling of acoustic and chemical signals in the courtship behaviour of the male *Drosophila melanogaster*. *P Roy Soc B-Biol Sci* 269: 695-701.

- T. Sakai y N. Ishida** (2001). Circadian rhythms of female mating activity governed by clock genes in *Drosophila*. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 9221-9225.
- T. Sakai y N. Ishida** (2001). Time, love and species. *Neuro Endocrinol Lett* 22: 222-228.
- T. Sakai y Y. Kidokoro** (2002). Overexpression of a CREB repressor isoform enhances the female sexual receptivity in *Drosophila*. *Behav Genet* 32: 413-422.
- M. Santos, A. Ruiz, A. Barbadilla, J.E. Quezada-Diaz, E. Hasson y A. Fontdevila** (1988). The evolutionary history of *drosophila-buzzatii* xiv larger flies mate more often in nature. *Heredity* 61: 255-262.
- M. Santos** (1996). Apparent directional selection of body size in *Drosophila buzzatii*: Larval crowding and male mating success. *Evolution* 50: 2530-2535.
- F. Savarit, G. Sureau, M. Cobb y J.-F. Ferveur** (1999). Genetic elimination of known pheromones reveals the fundamental chemical bases of mating and isolation in *Drosophila*. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 9015-9020.
- D. Scott** (1994). Genetic variation for female mate discrimination in *Drosophila melanogaster*. *Evolution* 48: 112-121.
- D. Scott** (1996). Female mate discrimination or male responses to female stimulation? (reply). *Evolution* 50: 1721-1723.
- P.M. Service** (1993). Laboratory evolution of longevity and reproductive fitness components in male fruit flies: Mating ability. *Evolution* 47: 387-399.
- C.M. Sgro, T. Chapman y L. Partridge** (1998). Sex-specific selection on time to remate in *Drosophila melanogaster*. *Anim Behav* 56: 1267-1278.
- P.M. Sharp** (1984). The effect of inbreeding on competitive male mating ability in *drosophila-melanogaster*. *Genetics* 106: 601-612.
- B.N. Singh y S. Sisodia** (2000). Frequency-dependent selection: Minority male mating advantage in *Drosophila*. *Curr Sci* 78: 141-150.
- A. Som y B.N. Singh** (2001). Lack of evidence for rare male mating advantage in wild type strains of *Drosophila ananassae*. *Curr Sci* 81: 383-387.
- E.B. Spiess y H.L. Carson** (1981). Sexual selection in *drosophila-silvestris* of hawaii usa. *Proc Natl Acad Sci USA* 78: 3088-3092.
- E.B. Spiess** (1982). Do female flies choose their mates? *Am Nat* 119: 675-693.
- R.H. Steele** (1986). Courtship feeding in *drosophila-subobscura* ii courtship feeding by males influences female mate choice. *Anim Behav* 34: 1099-1108.
- R.H. Steele y L. Partridge** (1988). A courtship advantage for small males in *drosophila-subobscura*. *Anim Behav* 36: 1190-1197.

- A.H. Sturtevant** (1915). Experiments on sex recognition and the problem of sexual selection in *Drosophila*. *J Anim Behav* 5: 351-366.
- K. Suzuki, N. Juni y D. Yamamoto** (1997). Enhanced mate refusal in female *Drosophila* induced by a mutation in a spinster locus. *Appl Entomol Zool* 32: 235-243.
- J.P. Swaddle, M.S. Witter y I.C. Cuthill** (1994). The analysis of fluctuating asymmetry. *Anim Behav* 48: 986-989.
- D.W. Tallamy** (1984). Insect parenteral care. *Bioscience* 34: 20-24.
- E. Tauber, H. Roe, R. Costa, J.M. Hennessy y C.P. Kyriacou** (2003). Temporal mating isolation driven by a behavioral gene in *Drosophila*. *Curr Biol* 13: 140-145.
- C.E. Taylor, A.D. Pereda y J.A. Ferrari** (1987). On the correlation between mating success and offspring quality in *drosophila-melanogaster*. *Am Nat* 129: 721-729.
- C.T. Ting, A. Takahashi y C.I. Wu** (2001). Incipient speciation by sexual isolation in *Drosophila*: concurrent evolution at multiple loci. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 6709-6713.
- M. Tomaru, M. Doi, H. Higuchi y Y. Oguma** (2000). Courtship song recognition in the *Drosophila melanogaster* complex: Heterospecific songs make females receptive in *D melanogaster*, but not in *D sechellia*. *Evolution* 54: 1286-1294.
- M. Tomaru y Y. Oguma** (2000). Mate choice in *Drosophila melanogaster* and *D sechellia*: Criteria and their variation depending on courtship song. *Anim Behav* 60: 797-804.
- L. Tompkins y J.C. Hall** (1983). Identification of brain sites controlling female receptivity in mosaics of *drosophila-melanogaster*. *Genetics* 103: 179-196.
- R.L. Trivers** (1972). Parental investment and sexual selection. En "Sexual selection and the descent of man, 1871-1971 ", B. Campbell, ed. (Chicago, IL), pp. 136-179.
- K. Vahed** (1998). The function of nuptial feeding in insects: A review of empirical studies. *Biol Rev* 73: 43-78.
- F. von Schilcher** (1976). The role of auditory stimuli in the courtship of *Drosophila melanogaster*. *Anim Behav* 24: 18-26.
- F. von Schilcher** (1976). The function of pulse song and sine song in the courtship of *Drosophila melanogaster*. *Anim Behav* 24: 622-625.
- W.E. Wagner, Jr.** (1998). Measuring female mating preferences. *Anim Behav* 55: 1029-1042.
- B. Wallace** (1989). Analyzing variation in egg-to-adult viability in experimental populations of *drosophila-melanogaster*. *Proc Natl Acad Sci USA* 86: 2117-2121.
- B. Wallace** (1990). Male-male interactions and mating kinetics in *drosophila*. *Behav Genet* 20: 405-422.
- N. Wedell** (2001). Female remating in butterflies: Interaction between female genotype and nonfertile sperm. *J Evol Biol* 14: 746-754.

- G.S. Wilkinson** (1987). Equilibrium analysis of sexual selection in *Drosophila-melanogaster*. *Evolution* 41: 11-21.
- G.S. Wilkinson y P.R. Reillo** (1994). Female choice response to artificial selection on an exaggerated male trait in a stalk-eyed fly. *P Roy Soc B-Biol Sci* 255: 1-6.
- M.F. Wolfner** (2002). The gifts that keep on giving: Physiological functions and evolutionary dynamics of male seminal proteins in *Drosophila*. *Heredity* 88: 85-93.
- C.I. Wu, H. Hollocher, D.J. Begun, C.F. Aquadro, Y. Xu y M.L. Wu** (1995). Sexual isolation in *Drosophila melanogaster*: a possible case of incipient speciation. *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 2519-2523.
- D. Yamamoto, J.-M. Jallon y A. Komatsu** (1997). Genetic dissection of sexual behavior in *Drosophila melanogaster*. *Ann Rev Entomol*: 551-585.
- D. Yamamoto, K. Fujitani, K. Usui, H. Ito y Y. Nakano** (1998). From behaviour to development: Genes for sexual behavior define the neuronal sexual switch in *Drosophila*. *Mech Dev* 73: 135-146.
- D. Yamamoto y Y. Nakano** (1998). Genes for sexual behavior. *Biochem Bioph Chem Co* 246: 1-6.
- A. Zahavi** (1975). Mate selection-a selection for a handicap. *J Theor Biol* 53: 205-214.
- K.R. Zamudio, R.B. Huey y W.D. Crill** (1995). Bigger isn't always better: Body size, developmental and parental temperature and male territorial success in *Drosophila melanogaster*. *Anim Behav* 49: 671-677.
- J.H. Zar** (1999). *Biostatistical analysis*, 4^a ed. (New Jersey, Prentice-Hall).
- S.-D. Zhang y W.F. Odenwald** (1995). Misexpression of the white (w) gene triggers male-male courtship in *Drosophila*. *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 5525-5529.

FIGURAS

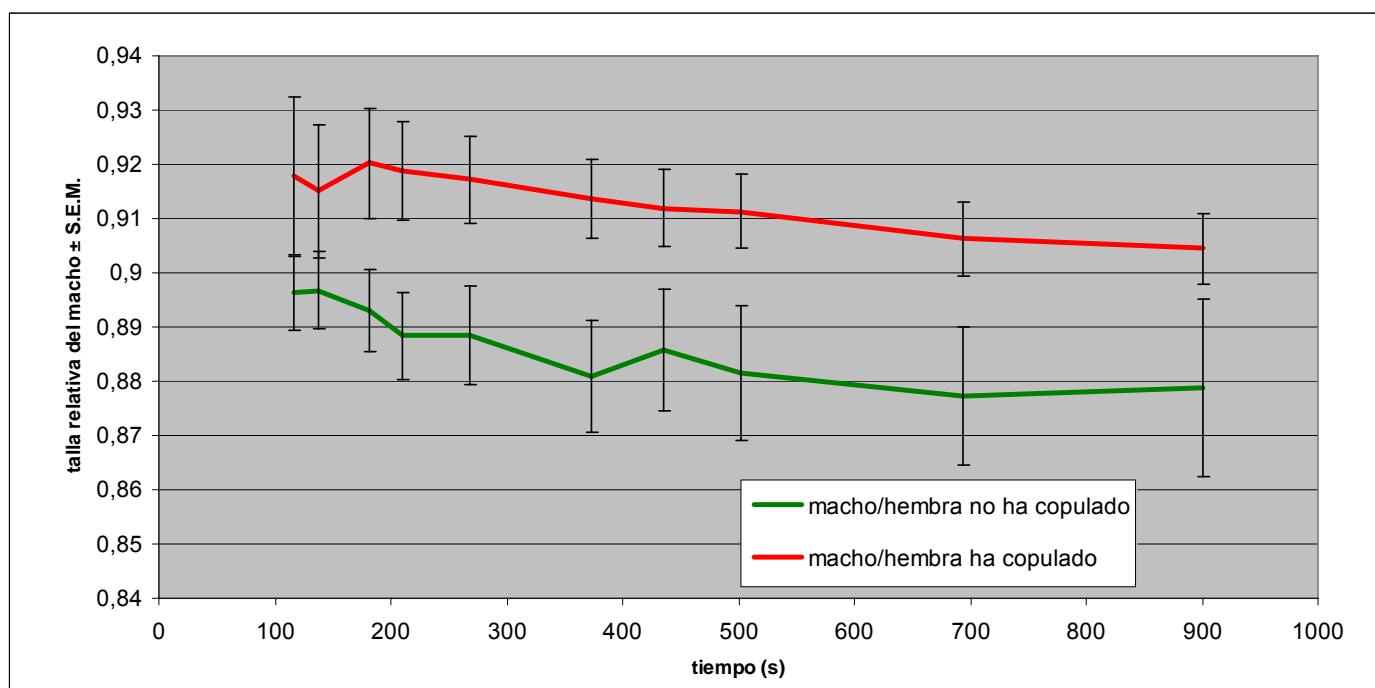
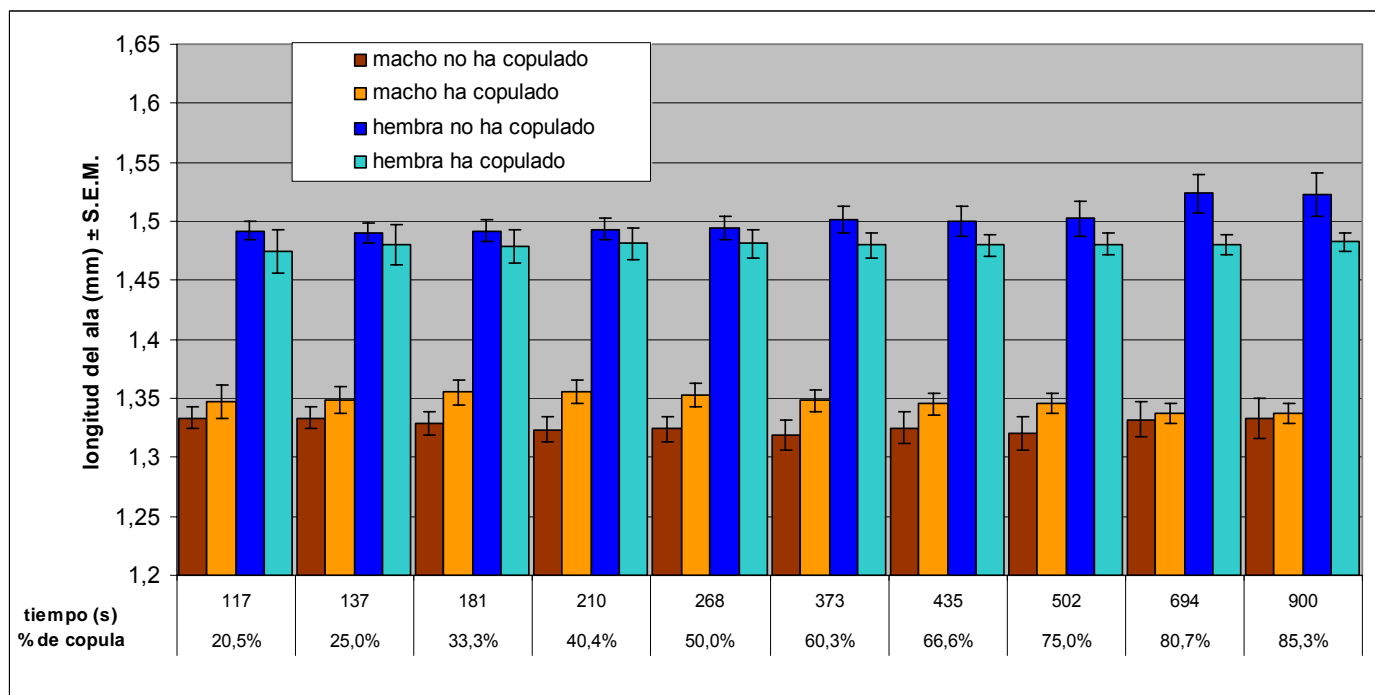


Figura 1.1: Tamaño de las moscas que se aparean en los experimentos sin competición realizados en la cámara de apareamiento. En la primera gráfica presentamos el tamaño medio de los machos y las hembras que han copulado y que no en diferentes momentos a lo largo del experimento. Las barras de error nos indican el error típico de la media, de modo que cuando las barras no solapan las diferencias de talla entre los dos grupos (animales que copulan frente a los que no) son significativas. En la segunda gráfica presentamos la evolución de la talla relativa de los machos que copularon y los que no (cociente macho/hembra) a lo largo del experimento. La significación de la diferencia de las medias en cada punto de análisis la podemos deducir por el mismo procedimiento de observar si solapan o no las barras de error. Los puntos de análisis en ambas graficas se corresponden con los tiempos en que se había dado la cópula en un porcentaje determinado de los experimentos.

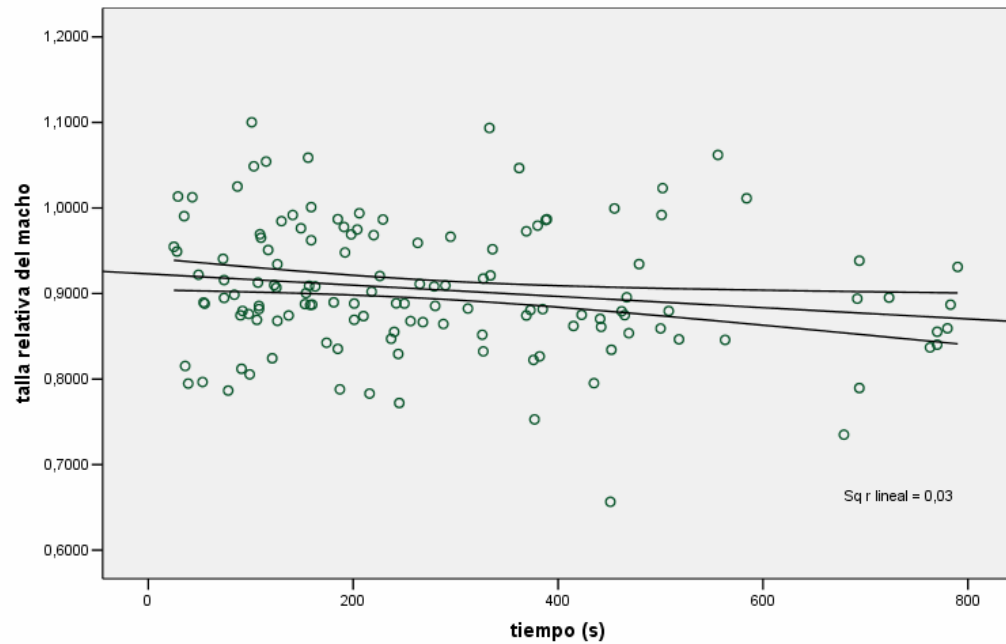
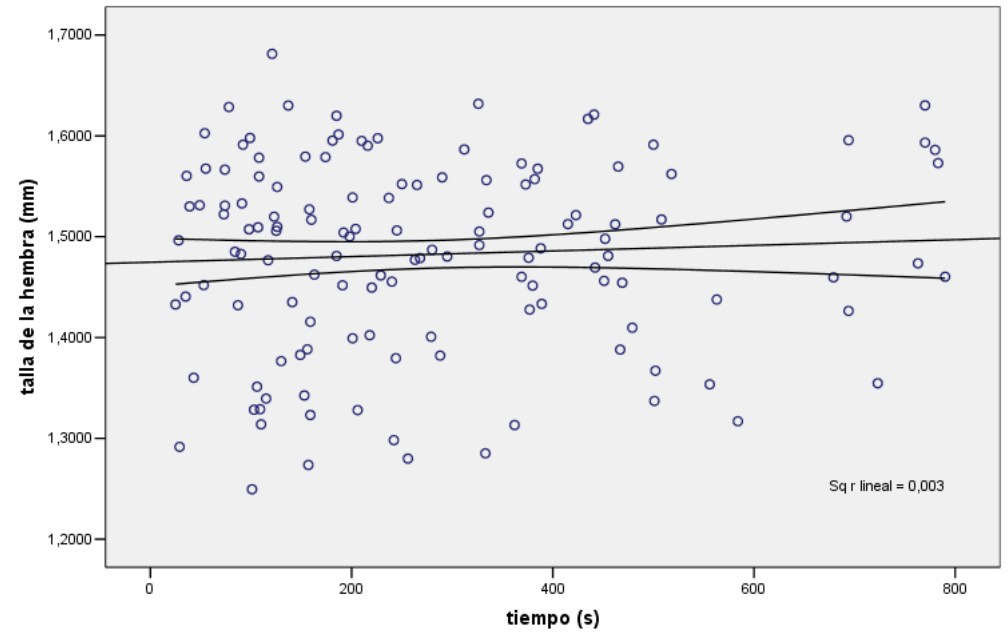
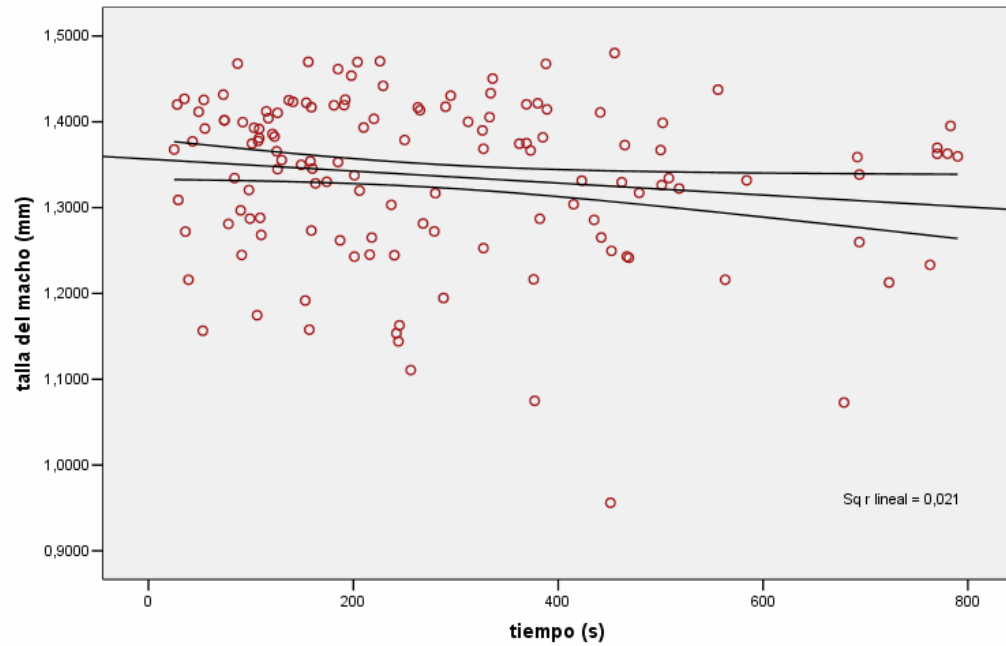


Figura 1.2: Representación gráfica de la relación entre el tamaño de las moscas y el tiempo hasta la cópula (CL) en experimentos sin competición realizados en la cámara de apareamiento. En cada gráfica se presenta, respectivamente, la relación con la talla del macho, con la talla de la hembra o con la talla relativa. En cada una de las gráficas aparece la recta de regresión que ajusta a la nube de puntos, con su R^2 (Sq r lineal) y alrededor de estas rectas dos líneas que muestran el intervalo de confianza al 95% para la media.

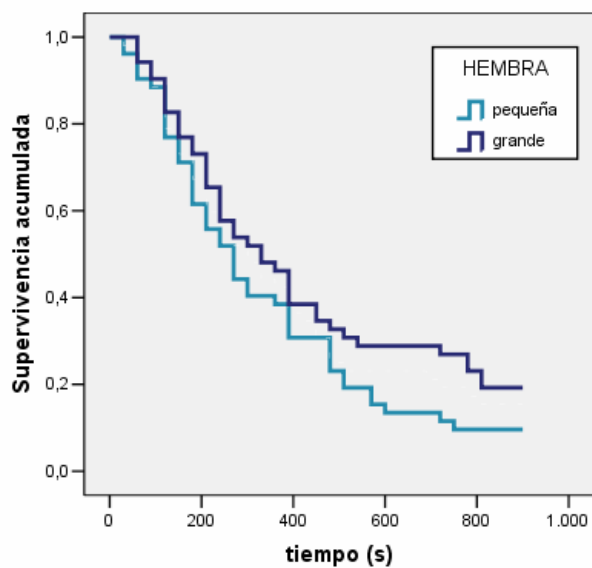
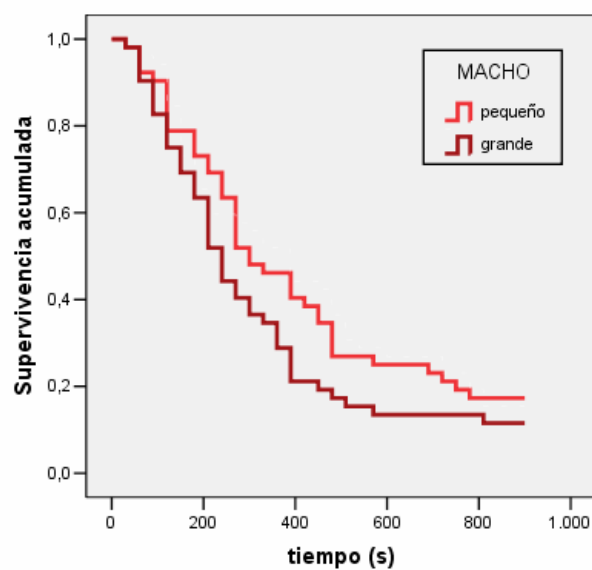
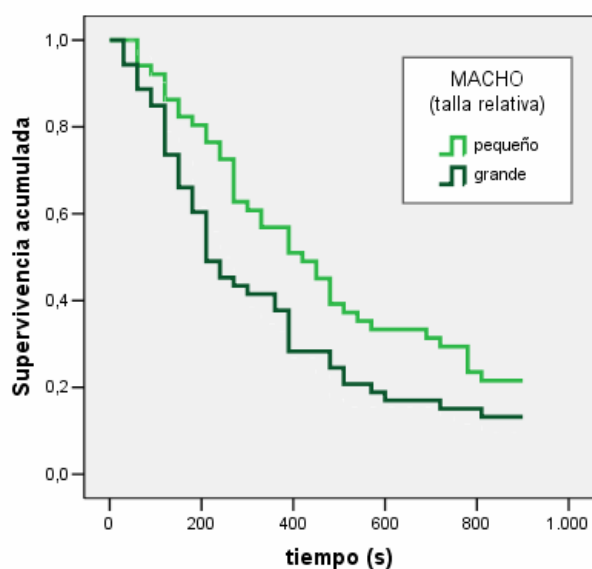


Figura 1.3: Curvas de supervivencia acumulada de los experimentos realizados en cámara de apareamiento sin competición. En cada gráfico se presentan dos curvas, una para los animales participantes de mayor tamaño y otra para los de menor tamaño. En cada gráfico se presentan las comparaciones realizadas según la talla de los machos, de las hembras o de las tallas relativas de los machos.



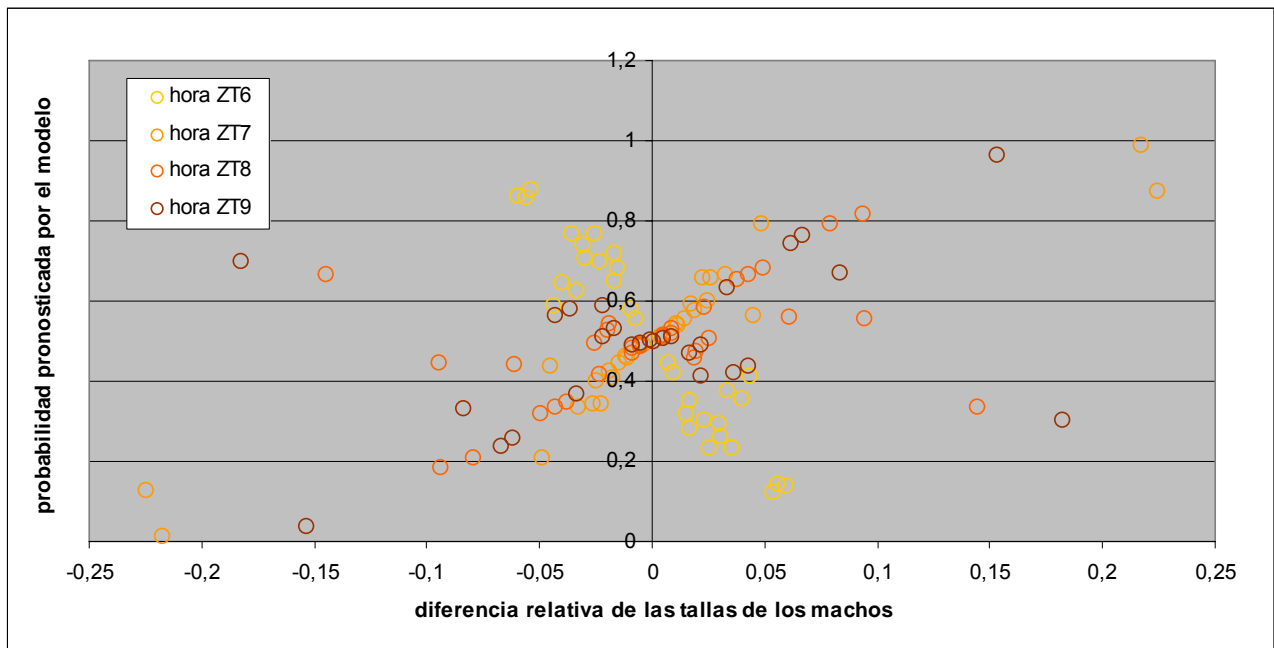


Figura 2.1: Probabilidades de la cópula de los machos en experimentos realizados en cámara de cortejo con competición. La regresión logística empleada para generar estas probabilidades incluía como variables la talla de la hembra, la diferencia de tallas entre los competidores, la interacción entre estas dos variables, la hora y la interacción de la diferencia con la hora. En el gráfico se presentan las probabilidades estimadas en función de la diferencia de talla relativa de los machos (eje de ordenadas) y la hora en que se realizó cada experimento. En casi todas las horas (excepto ZT6), a mayor es el macho (a mayor es la diferencia) mayor es su probabilidad de copular.

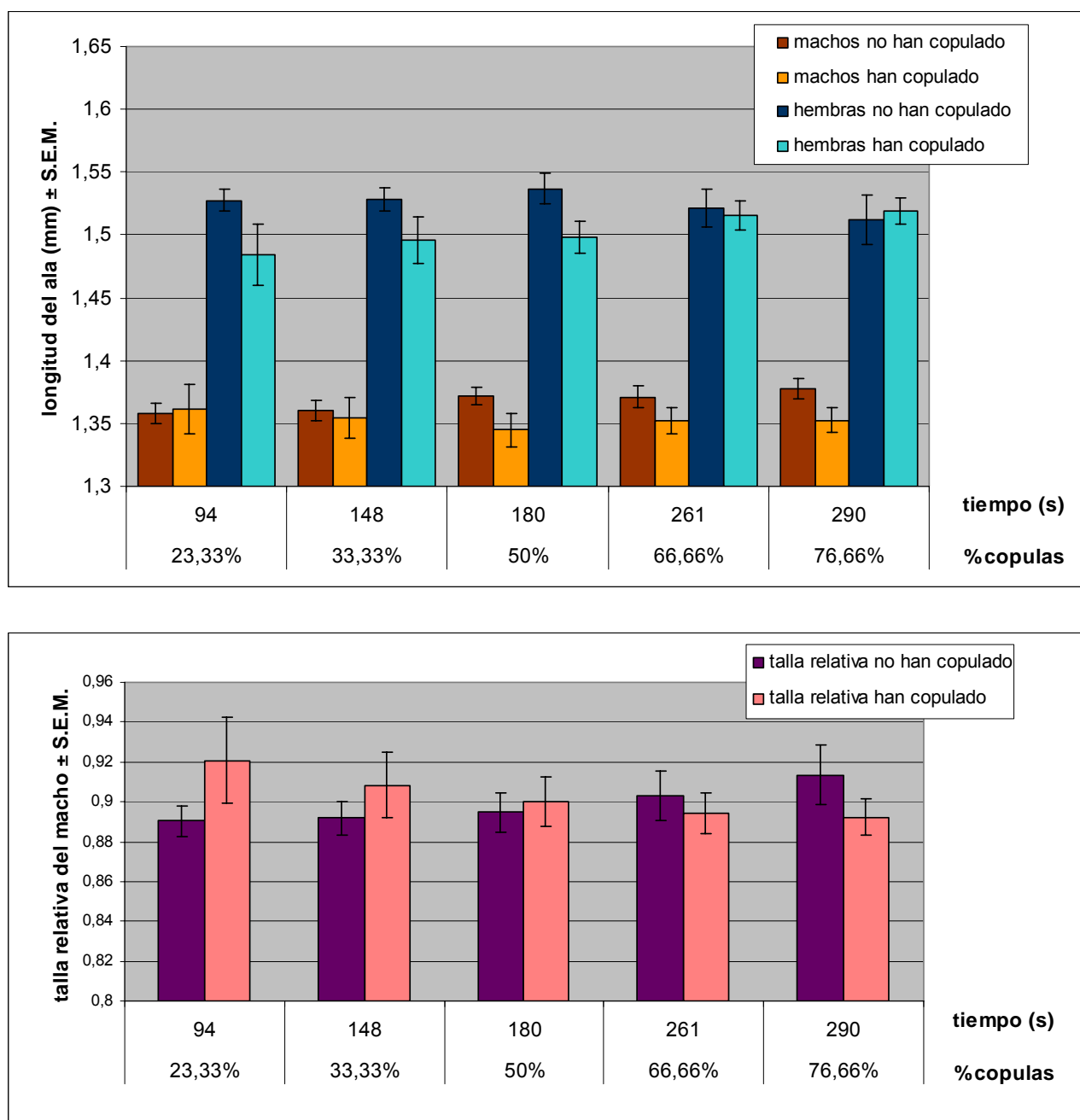


Figura 2.2: Tamaño de las moscas que se aparean (y no) en los experimentos con competición realizados en la cámara de apareamiento. En la primera gráfica presentamos el tamaño medio de los machos que finalmente copularon y de las hembras en función de que en determinados momentos del experimento hayan llegado a copular o no.. Las barras de error nos indican el error típico de la media, de modo que cuando las barras no solapan las diferencias de talla entre los dos grupos (animales que copulan frente a los que no) son significativas. En la segunda gráfica presentamos la evolución de la talla relativa de los machos que finalmente copularon (cociente macho/hembra) según hayan copulado ya o no en determinados puntos de análisis a lo largo del experimento. La significación de la diferencia de las medias en cada punto de análisis la podemos deducir por el mismo procedimiento de atender si solapan o no las barras de error. Los puntos de análisis en ambas graficas se corresponden con los tiempos en que se había dado la cópula en un porcentaje determinado de los experimentos.

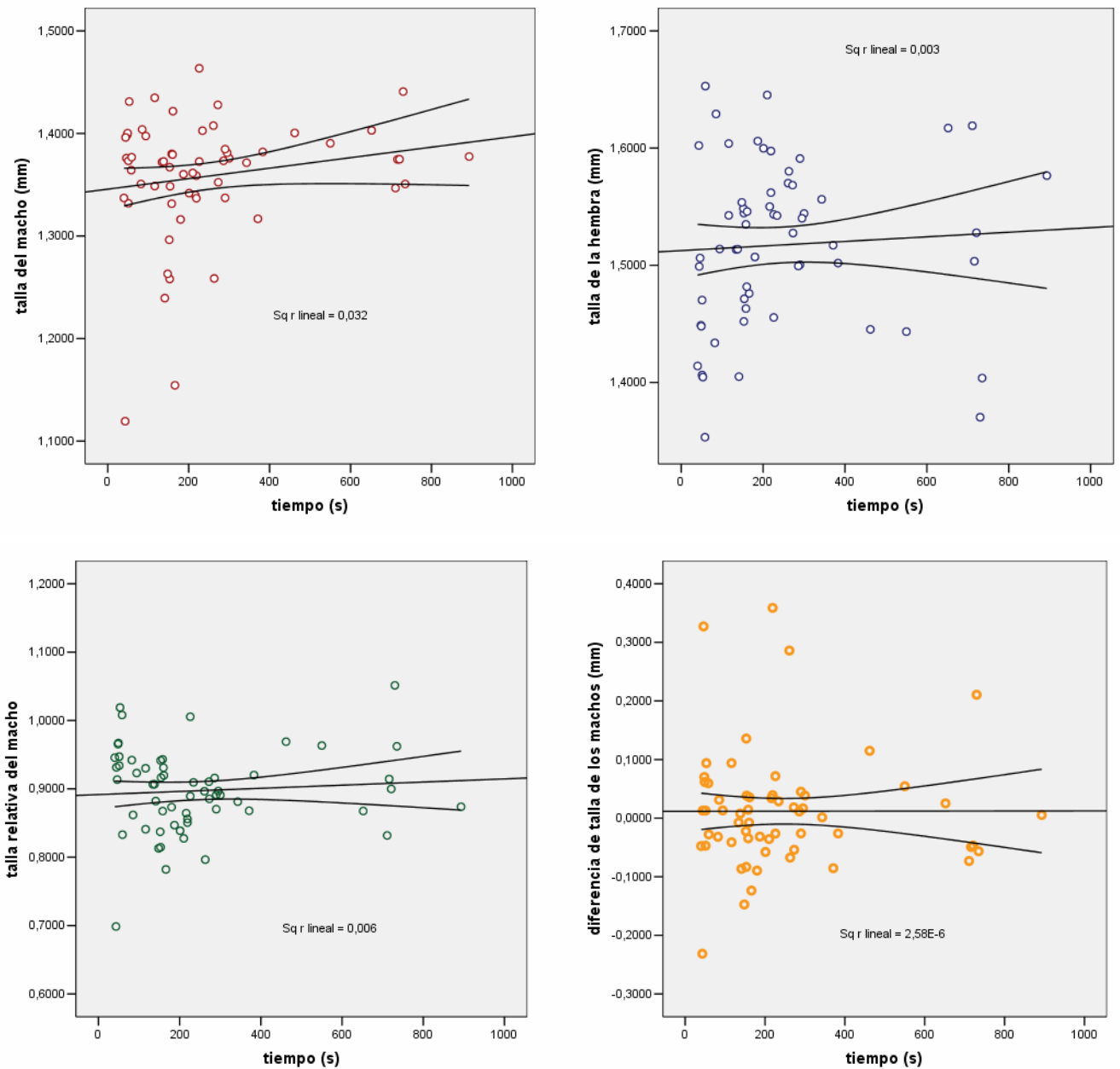


Figura 2.3: Representación gráfica de la relación entre el tamaño de las moscas y el tiempo hasta la cópula (CL) en experimentos con competición realizados en la cámara de apareamiento. En cada gráfica se presenta, respectivamente, la relación con la talla del macho, con la talla de la hembra o con la talla relativa. En cada una de las gráficas aparece la recta de regresión que ajusta a la nube de puntos, con su R^2 (Sq r lineal) y alrededor de estas rectas dos líneas que muestran el intervalo de confianza al 95% para la media.

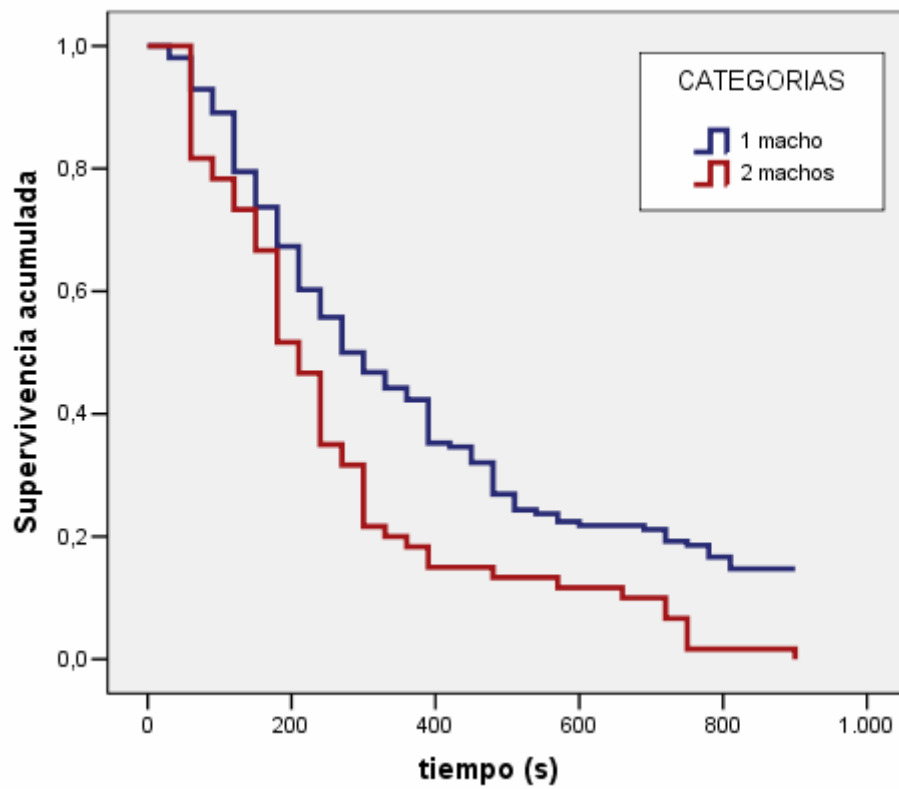


Figura 3.1: Curvas de supervivencia acumulada de los experimentos realizados en cámara de apareamiento con y sin competición. Se presentan dos curvas, una para los experimentos en que hubo competición (rojo) y otra para los que no (azul).

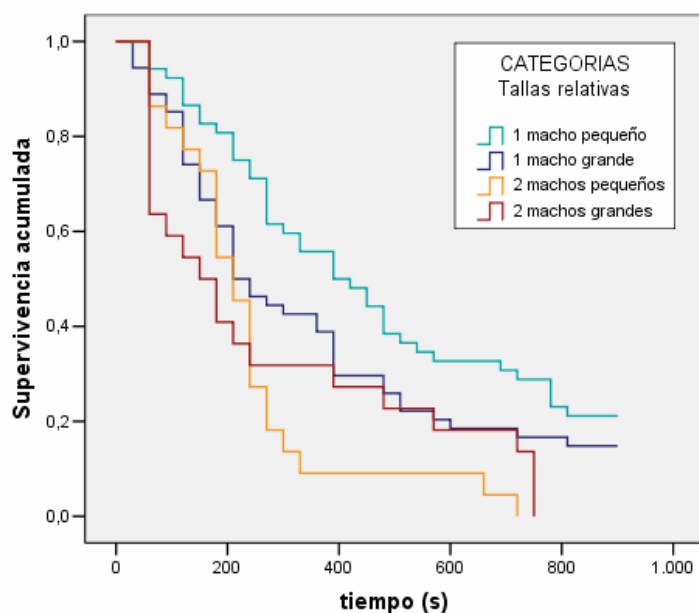
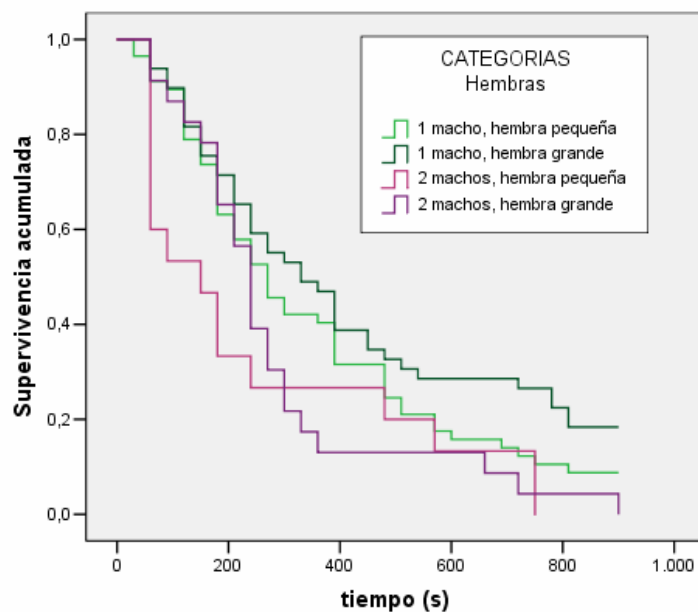
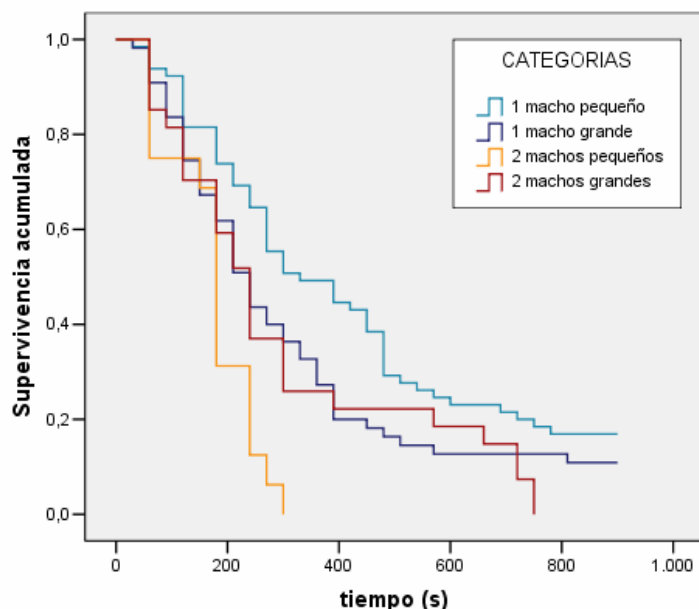
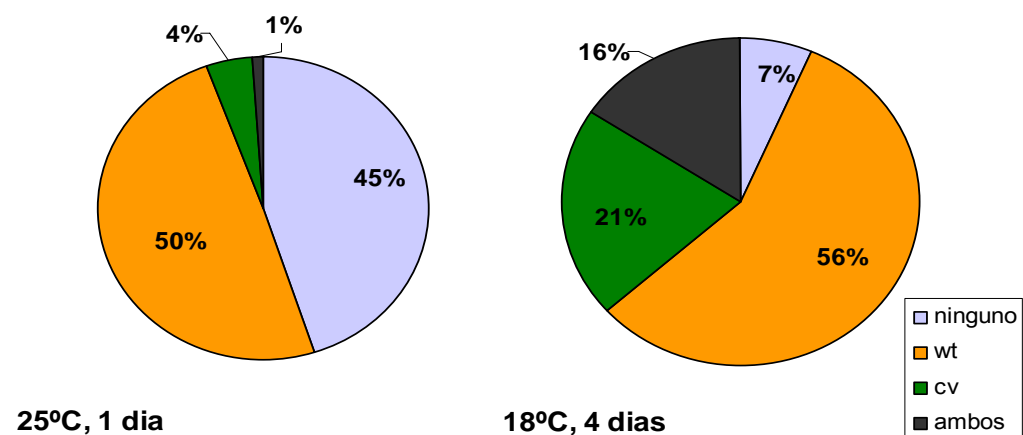


Figura 3.2: Curvas de supervivencia acumulada de los experimentos realizados en cámara de apareamiento con y sin competición. En cada gráfico se presentan cuatro curvas, dos para los experimentos sin competición y dos si hubo competición. Para cada una de estas condiciones experimentales se distingue además dos curvar, una para los animales participantes de mayor tamaño y otra para los de menor tamaño. En cada gráfico se presentan las comparaciones realizadas al agrupar los casos según la talla de los machos, la talla de las hembras y las tallas relativas de los machos.



		n	CHI	gl	p
DIFERENCIAS ENTRE CONDICIONES		282	72,370	3	<0,000
DIFERENCIAS ENTRE TANDAS	25°C, 1 día	162	9,728	12	0,640
	18°C, 4 días	120	13,258	9	0,151

FIGURA 4.1: Frecuencias presentes de todos los posibles resultados obtenidos al analizar la descendencia de los experimentos realizados en tubo con machos de dos genotipos diferentes. El cálculo se realiza por separado para las dos condiciones (experimentos mantenidos un día a 25°C o cuatro días a 18°C). En los gráficos circulares se aprecian claras diferencias en el tipo de resultados que se obtiene según las condiciones en que se realizaron los experimentos. En la primera de las tablas se contrasta la significación de estas diferencias al comparar entre las dos condiciones o entre las diferentes tandas dentro de cada condición. En la segunda tabla se muestran los valores de frecuencia obtenidos de cada uno de los tipos de resultados y el número de casos.

		ninguno	wt	cv	ambos	TOTAL
25°C, 1 día	%	45,06%	49,38%	4,32%	1,23%	
	n	73	80	7	2	162
18°C, 4 días	%	6,67%	56,67%	20,83%	15,83%	
	n	8	68	25	19	120

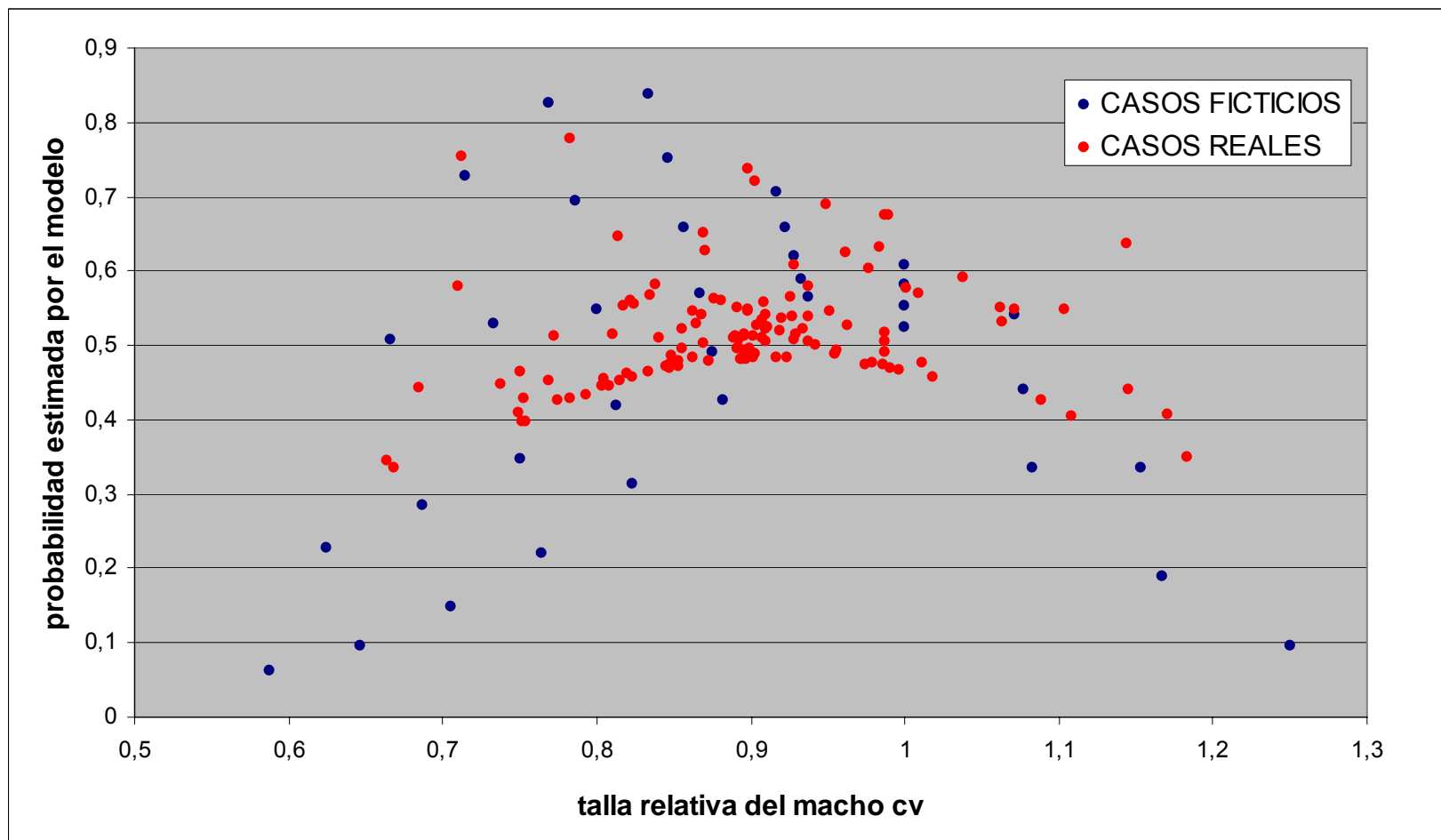


Figura 4.2: Probabilidades de que se produzca la cópula (de que la hembra copule) en experimentos realizados en tubo con machos de dos genotipos diferentes y mantenidos a 25°C un día. La regresión logística empleada para generar estas probabilidades incluía como variables la talla de la hembra, la talla del macho cv y la interacción entre estas dos variables. En el gráfico se presentan las probabilidades estimadas en función de la talla relativa del macho cv (eje de abscisas). Se emplearon para el cálculo de las probabilidades valores de talla de casos reales y también casos ficticios en que asignamos valores a las dos variables (talla de la hembra y talla del macho cv).

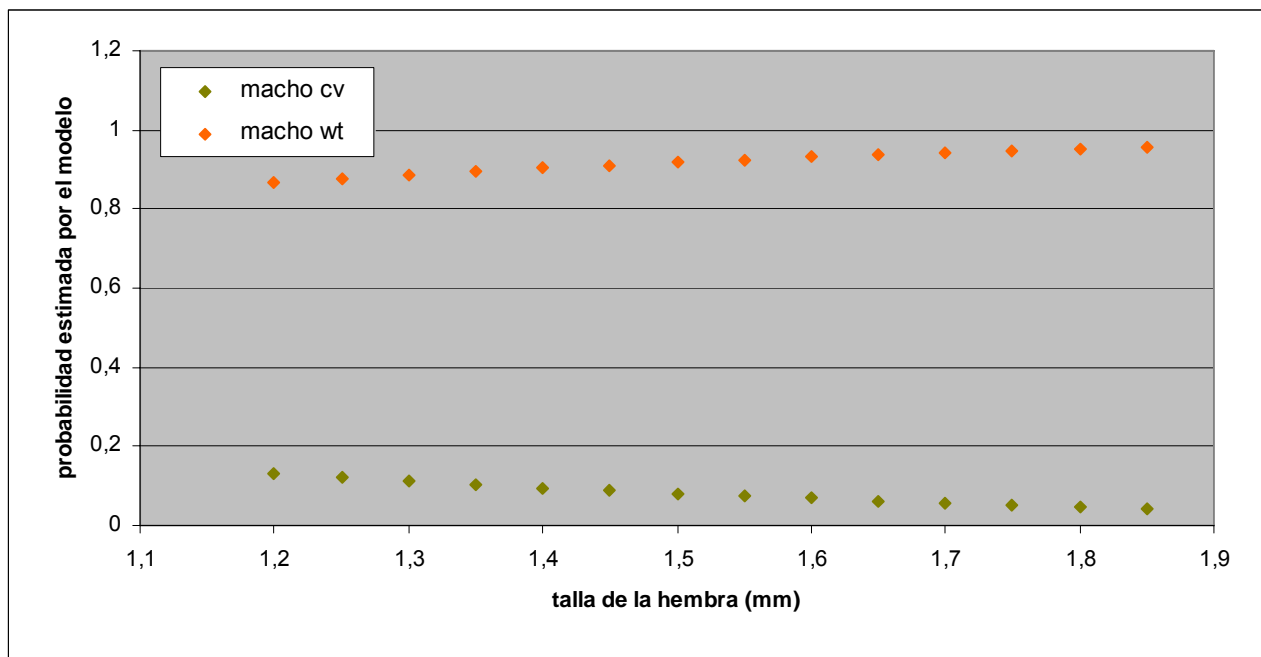


Figura 4.3: Probabilidades de que copule un macho dado en experimentos realizados en tubo con machos de dos genotipos diferentes y mantenidos a 25°C un día. La regresión logística empleada para generar estas probabilidades incluía como variables la talla de la hembra, genotipo del macho y la interacción entre estas dos variables. En el gráfico se presentan las probabilidades estimadas en función de la talla de la hembra (eje de abscisas). Como se puede observar la variable “talla de la hembra” apenas afecta a la probabilidad de copular y la diferencia real la marca el genotipo del macho

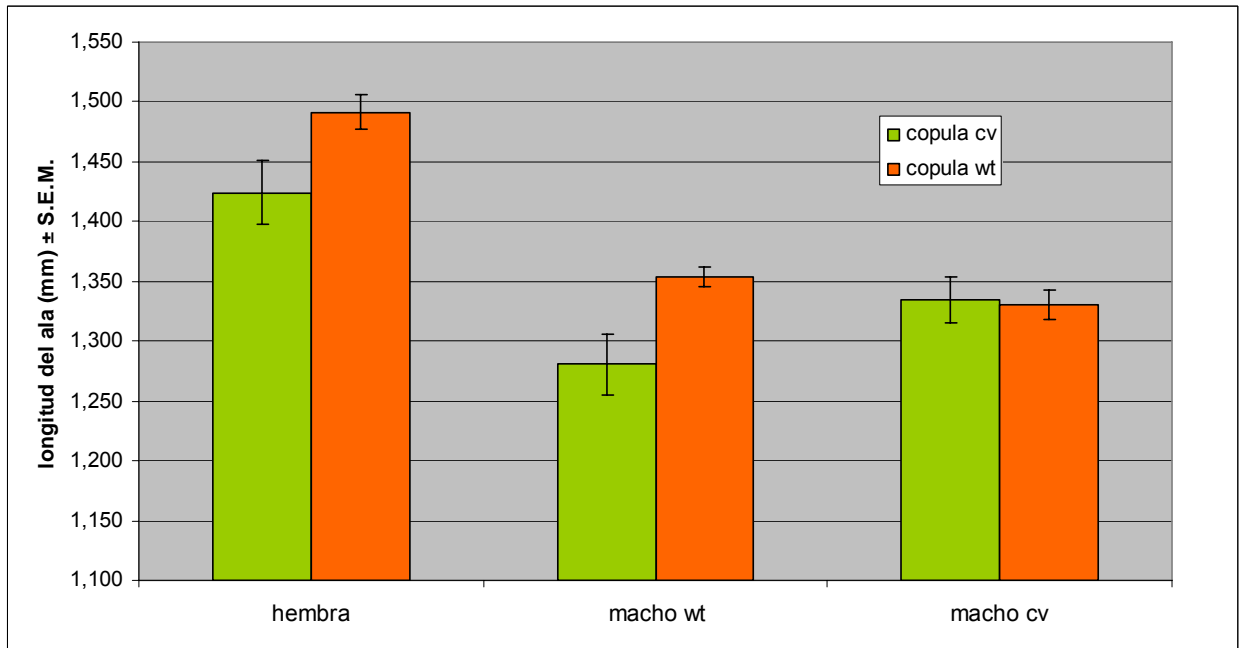
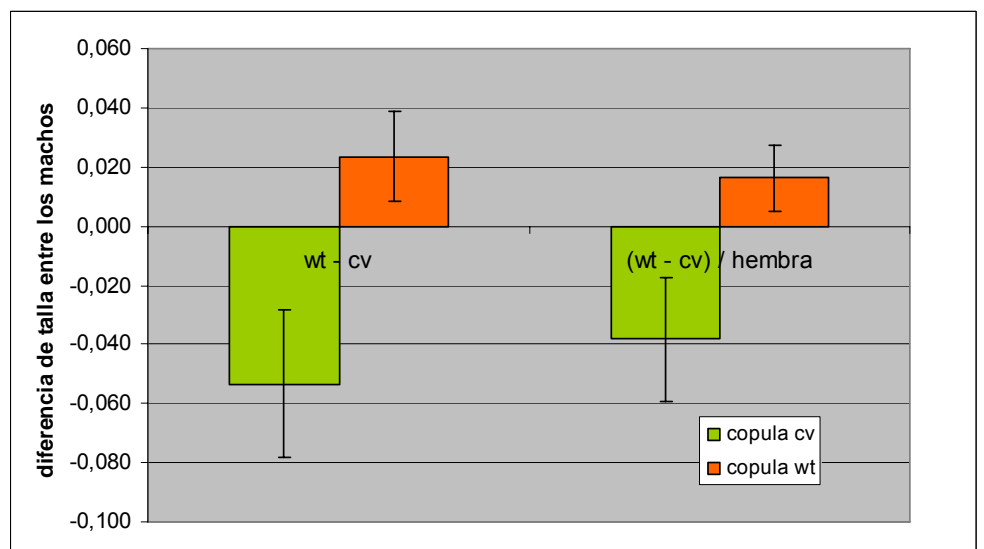
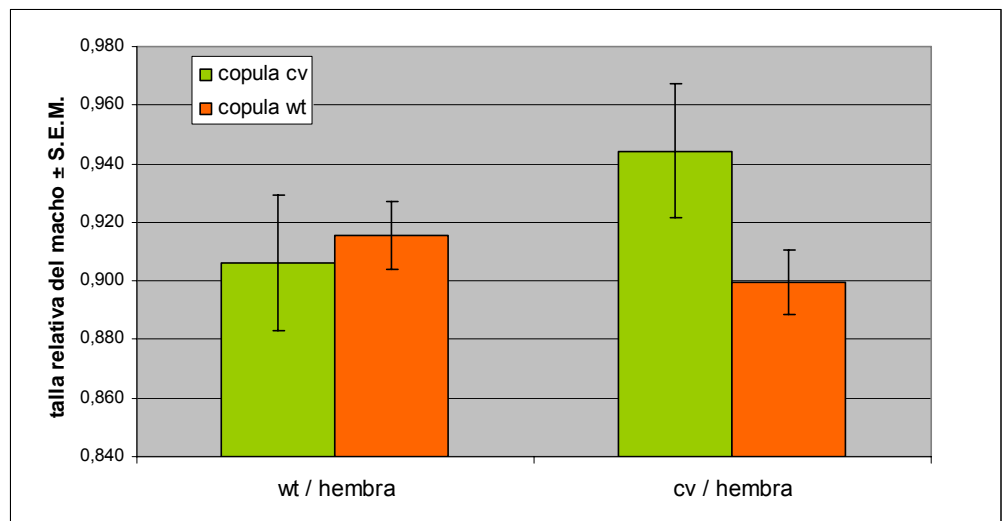


FIGURA 4.4: Comparaciones de diferentes tallas medias en función de si copula el macho wt o cv en los experimentos en tubo en que compiten machos de dos genotipos distintos. Las barras de error nos indican el error típico de la media, de modo que cuando las barras no solapan las diferencias de talla entre los dos grupos (experimentos en que copuló el macho wt o el cv) son significativas. En el primer gráfico se presentan los valores para las tallas de machos y hembras y se aprecia que en los experimentos en que copuló el macho cv el macho wt y la hembra eran de menor tamaño que si lo hizo el wt. El segundo gráfico presenta los valores referidos a las tallas relativas de los machos y en el tercero las diferencias de tallas entre los machos (siempre talla del wt menos talla del cv).



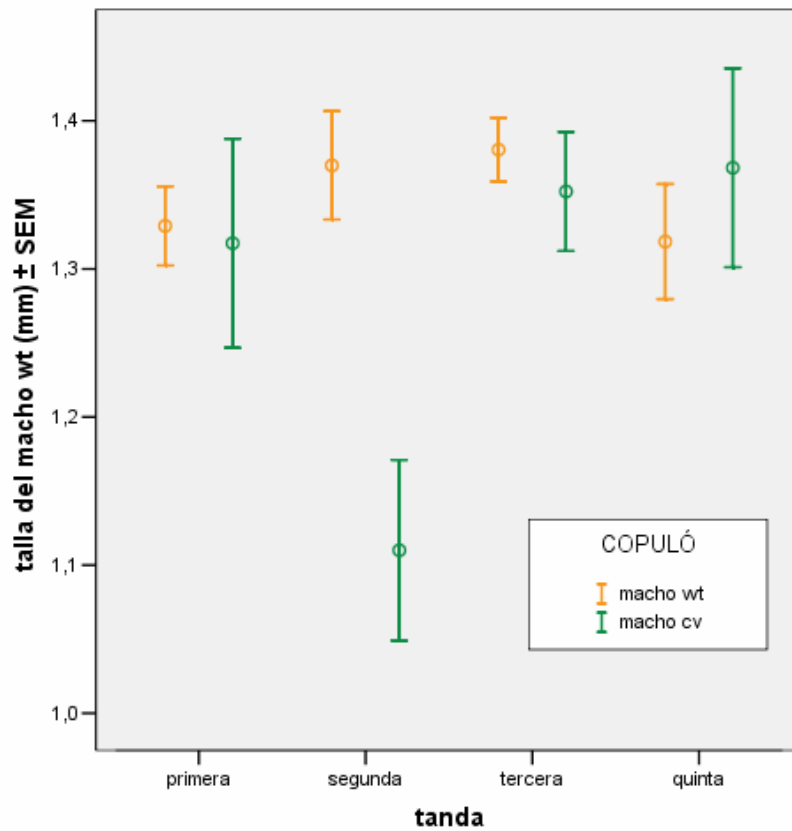


Figura 4.5: Talla del macho wt en los experimentos en que compiten dos machos de genotipo diferente en un tubo y que fueron mantenidos cuatro días a 18°C. La media se presenta para cada una de las cuatro tandas y se observa que en la segunda los machos cv copularon cuando la talla de los machos wt era sensiblemente inferior a la media.

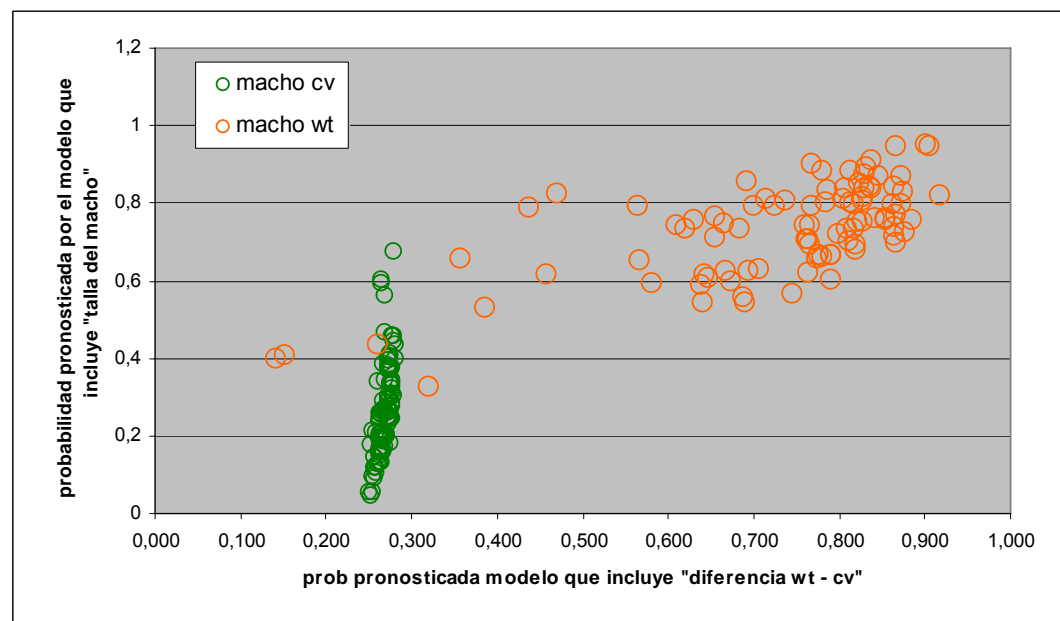
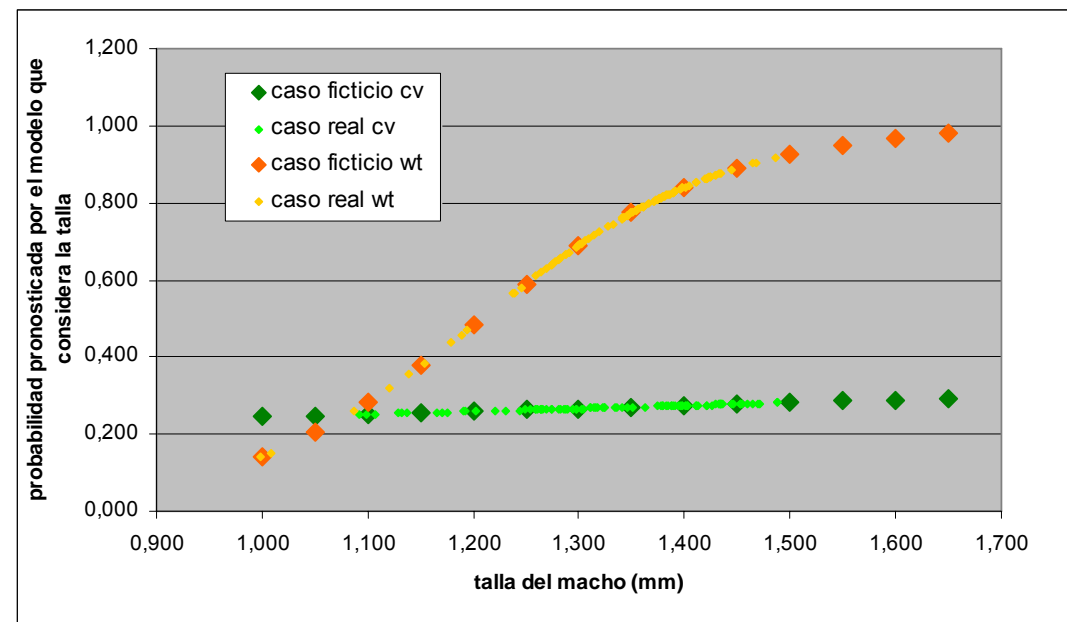
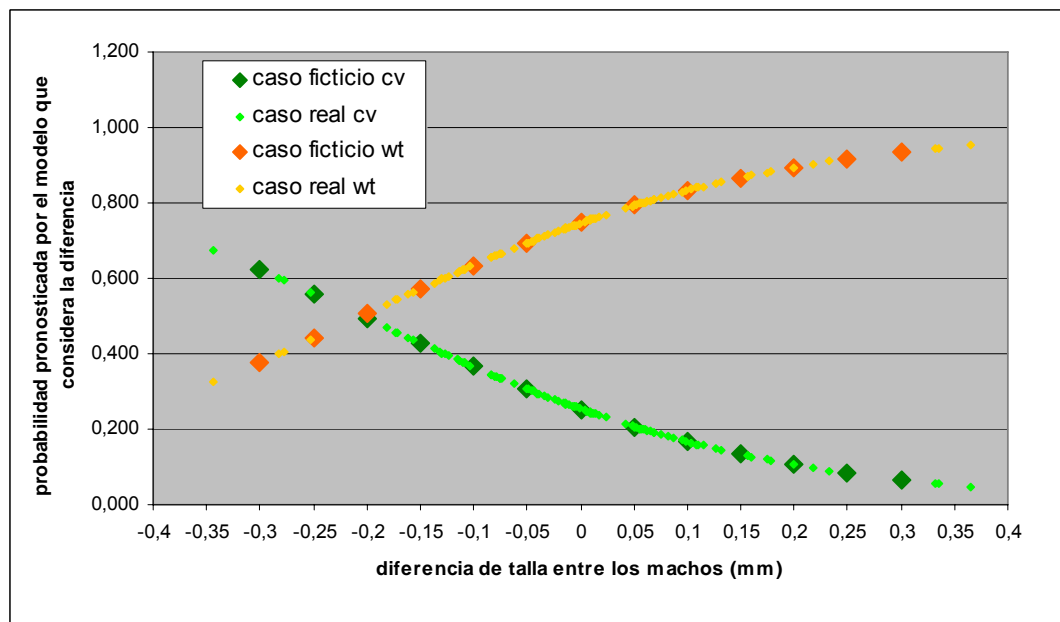


FIGURA 4.6: Probabilidades de que copule un macho dado en experimentos realizados en tubo con machos de dos genotipos diferentes y mantenidos a 18°C cuatro días. Se generaron dos regresiones logísticas prácticamente que ajustan de un modo parecido a los datos, de modo que en la primera y segunda gráficas presentamos las probabilidades pronosticadas según cada uno de estos modelos. El primero de ellos incluye como variables la talla del macho, su genotipo y la interacción entre ambos y ubica correctamente el 75,8% de los casos. El segundo modelo incluye como variables el genotipo, la diferencia de talla de los machos y su interacción con el genotipo. Este segundo modelo ubica correctamente el 75,3% de los casos. En los gráficos se presentan las probabilidades estimadas en función de la diferencia de tallas de los machos (primer gráfico) y de la talla del macho (segundo gráfico). En la tercera gráfica observamos que las probabilidades que estiman los dos modelos no apenas correlacionan.

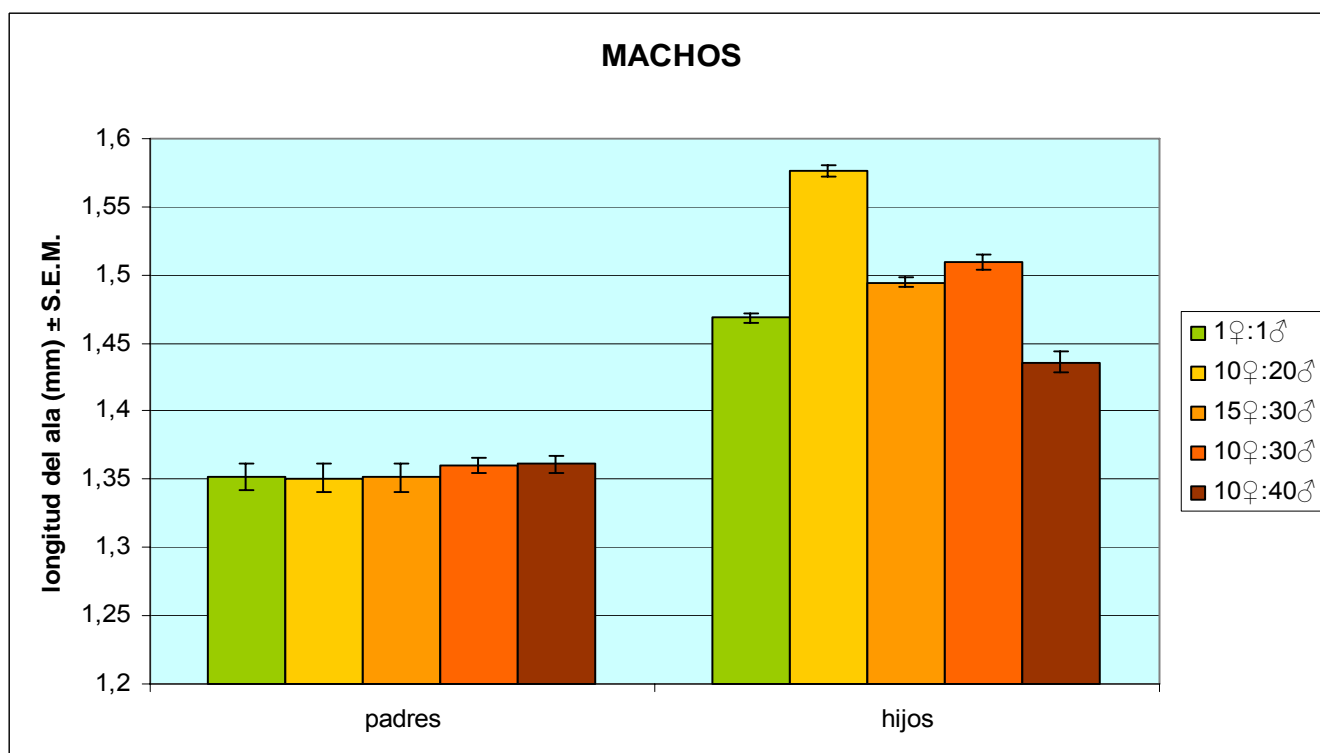
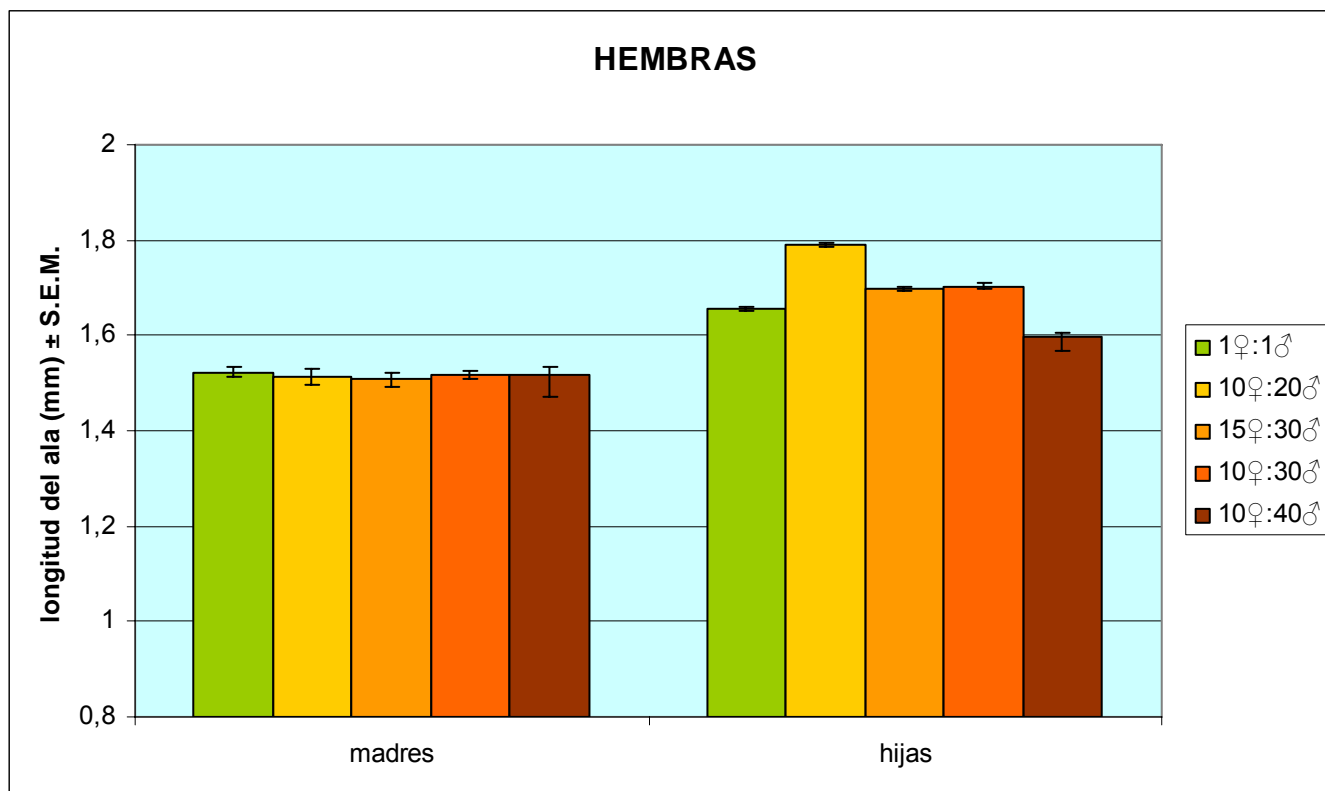


Figura 5.1: Talla de los animales que participaron en los experimentos en que a las hembras se les expuso a diferentes densidades de machos y de su descendencia. Se presentan dos gráficas, una para los machos y otra para las hembras. En cada una de ellas se presentan separadamente los valores que presentaron padres e hijos, con la talla media de cada densidad de macho representada en una barra. Se observa que en los experimentos en que la hembra puede optar entre varios machos la talla de la descendencia es mayor.

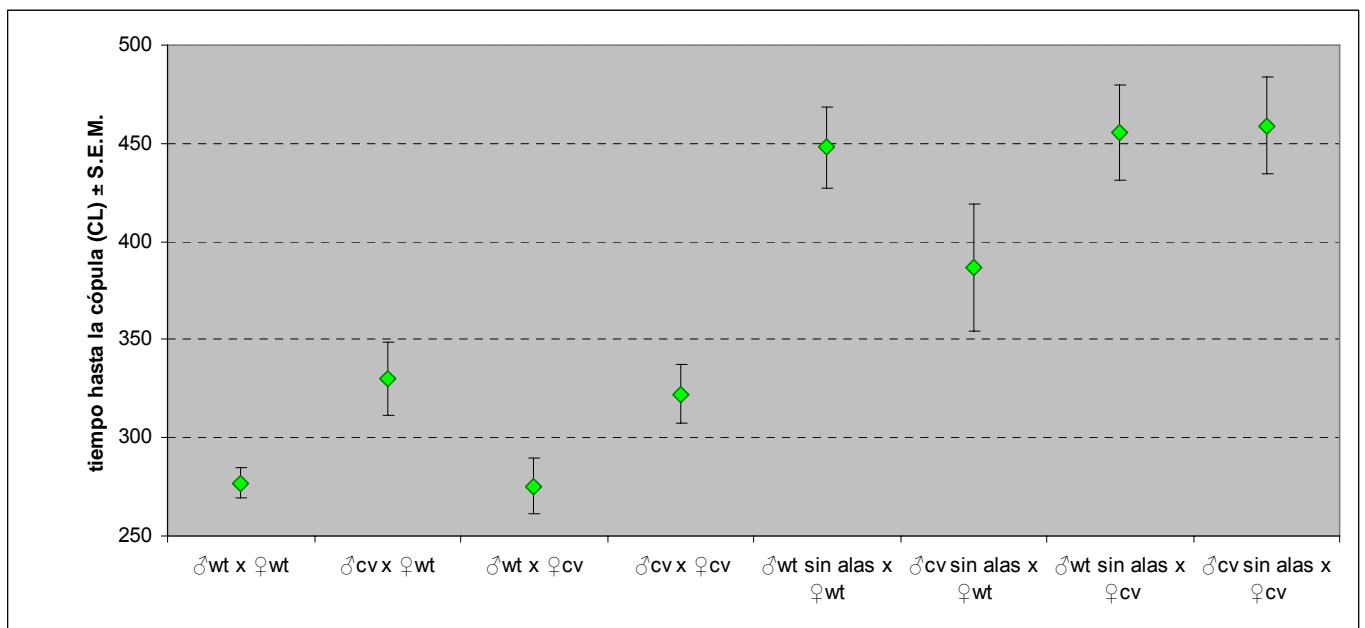
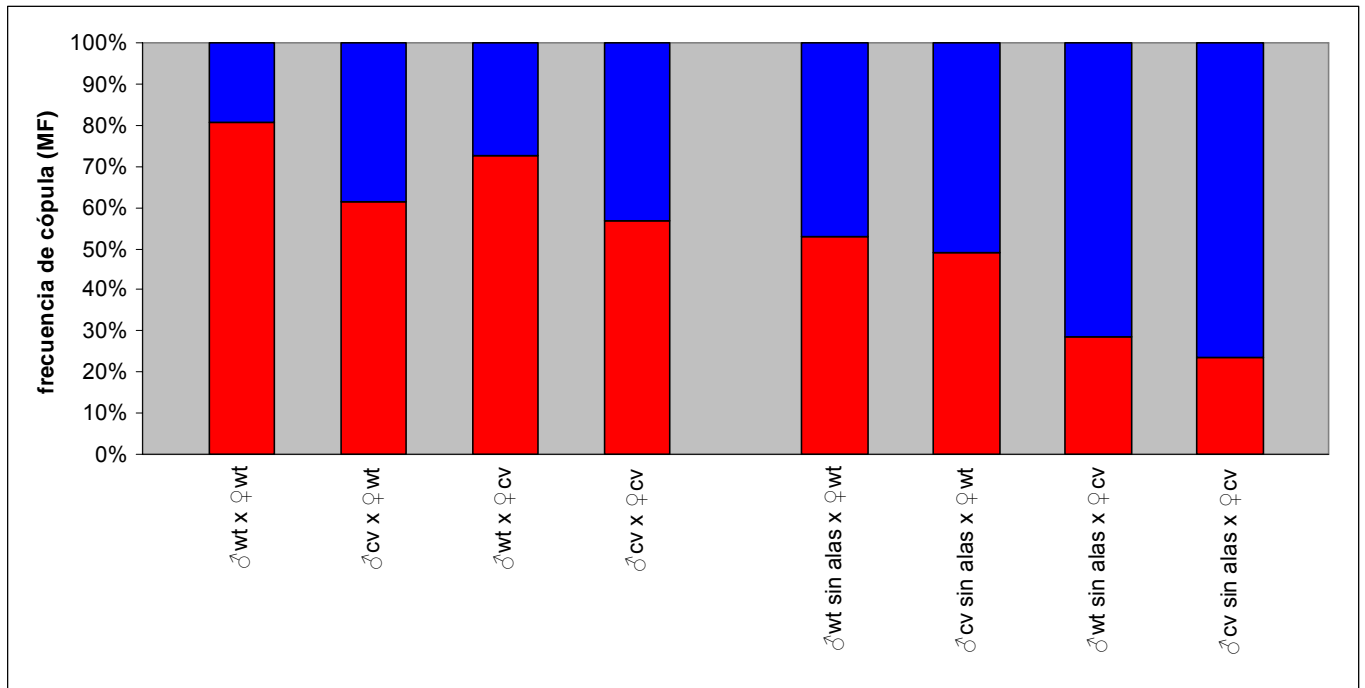


Figura 6.1: Frecuencia de cópula (MF) y tiempo hasta la cópula (CL) de todos los tipos de experimentos sin competición realizados en la cámara de apareamiento. En los valores de CL (segunda gráfica) las barras de error corresponden al el error típico de la media, de modo que cuando las barras no solapan las diferencias de talla entre los dos tipos de experimentos son significativas

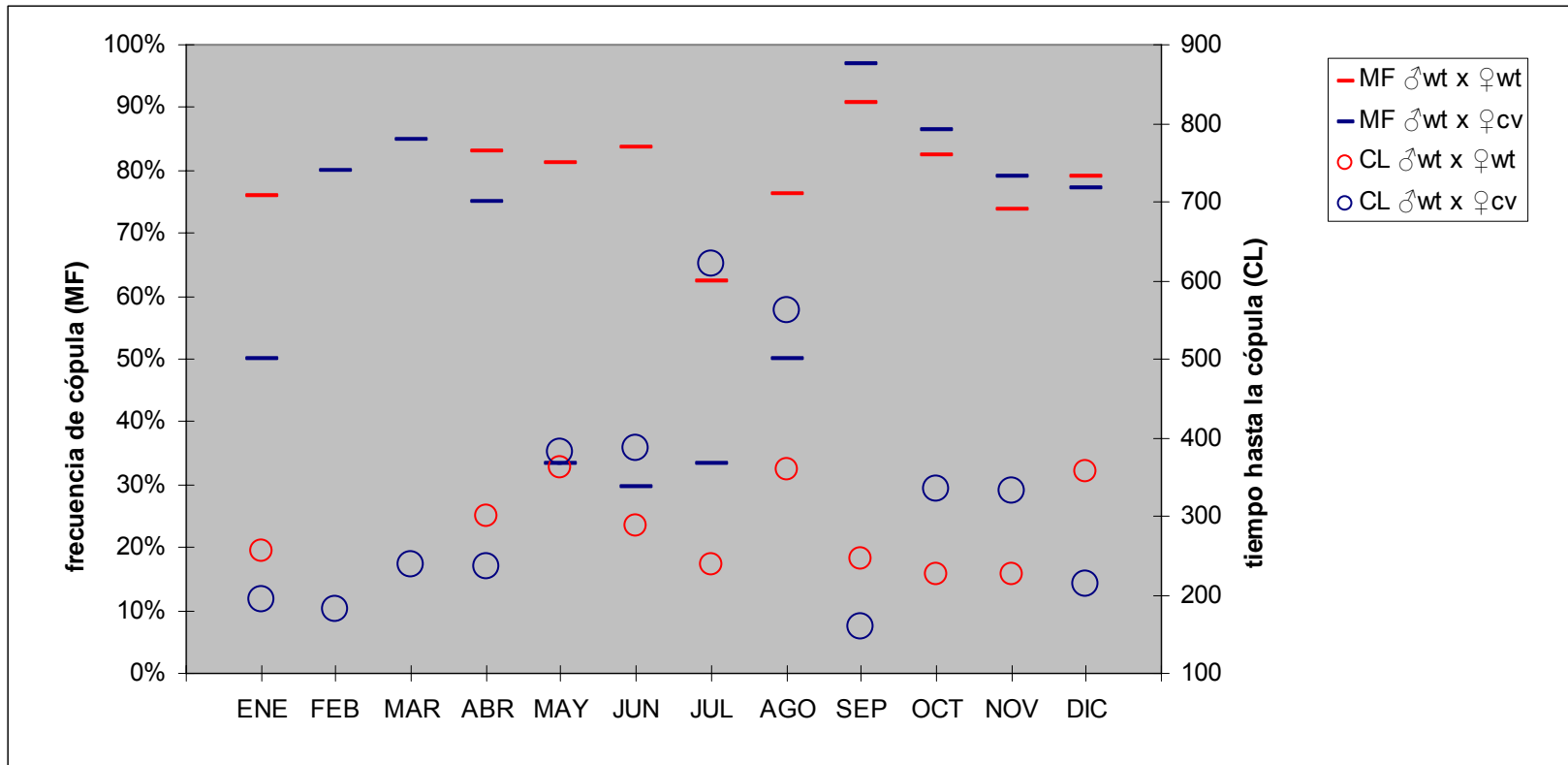


Figura 6.2 Frecuencia de cópula (MF; líneas) y tiempo hasta la cópula (CL; círculos) de los experimentos sin competición realizados en la cámara de apareamiento en que intervino un macho wt ante una hembra wt (rojo) o cv (azul) según el mes en que fueron realizados..

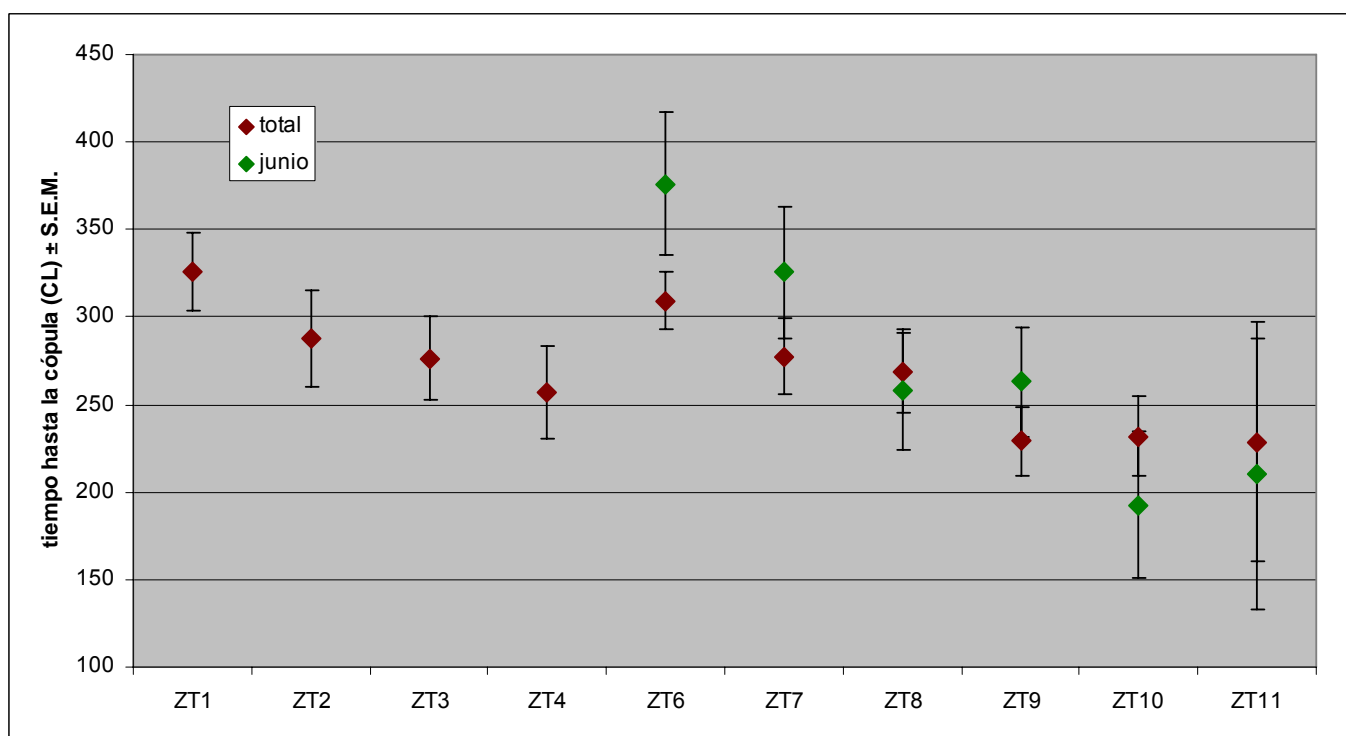
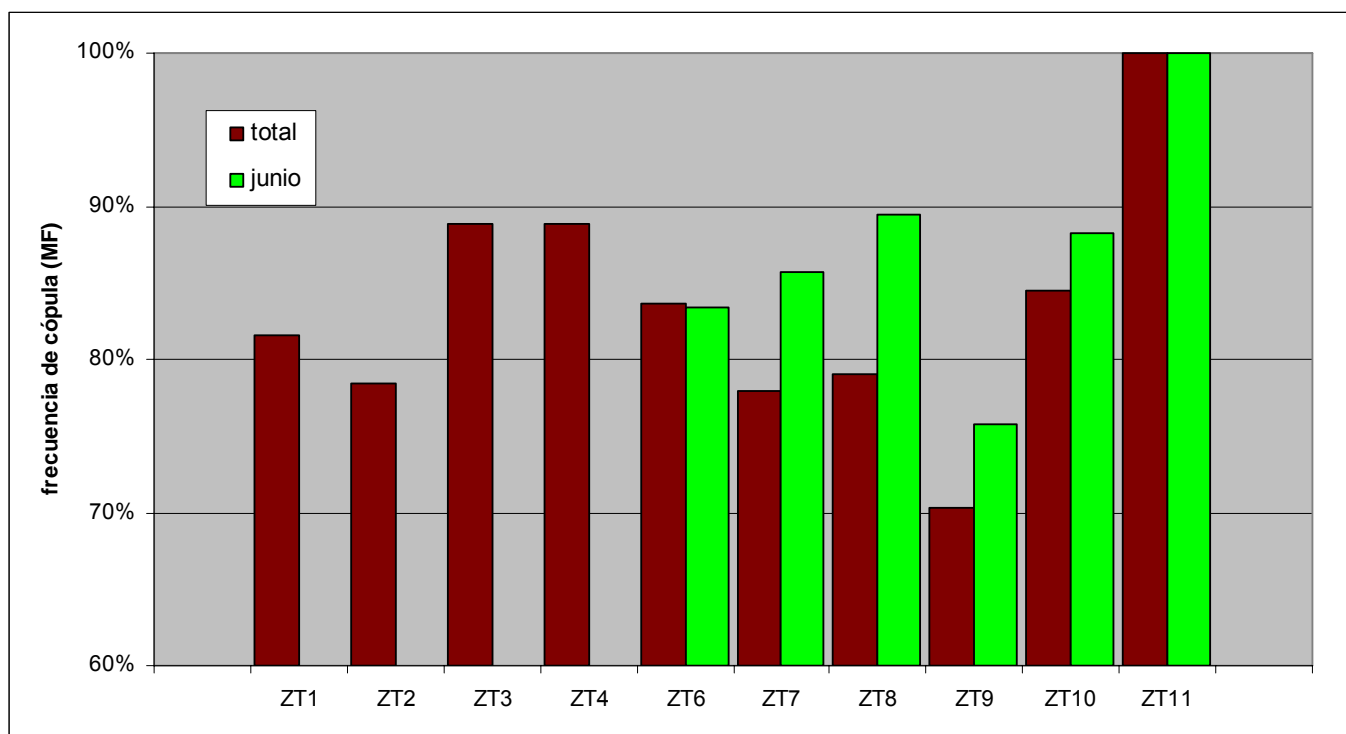


Figura 6.3: Frecuencia de cópula (MF) y tiempo hasta la cópula (CL) de los experimentos sin competición realizados en la cámara de apareamiento en que intervino un macho wt ante una hembra wt según la hora del día en que fueron realizados. Se presentan una segunda serie de barras y puntos en color verde donde están recogidos estos mismos valores calculados solamente para los experimentos empleados en la primera parte (experimentos para los que conocemos la talla de las moscas participantes).

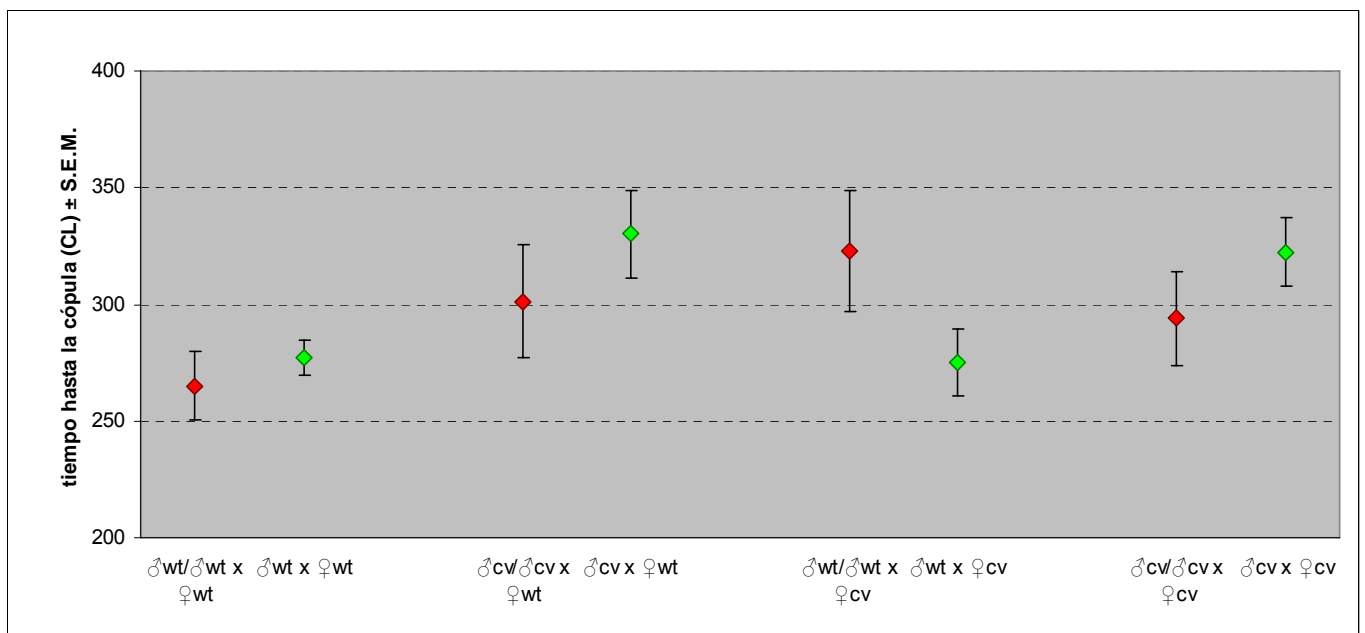
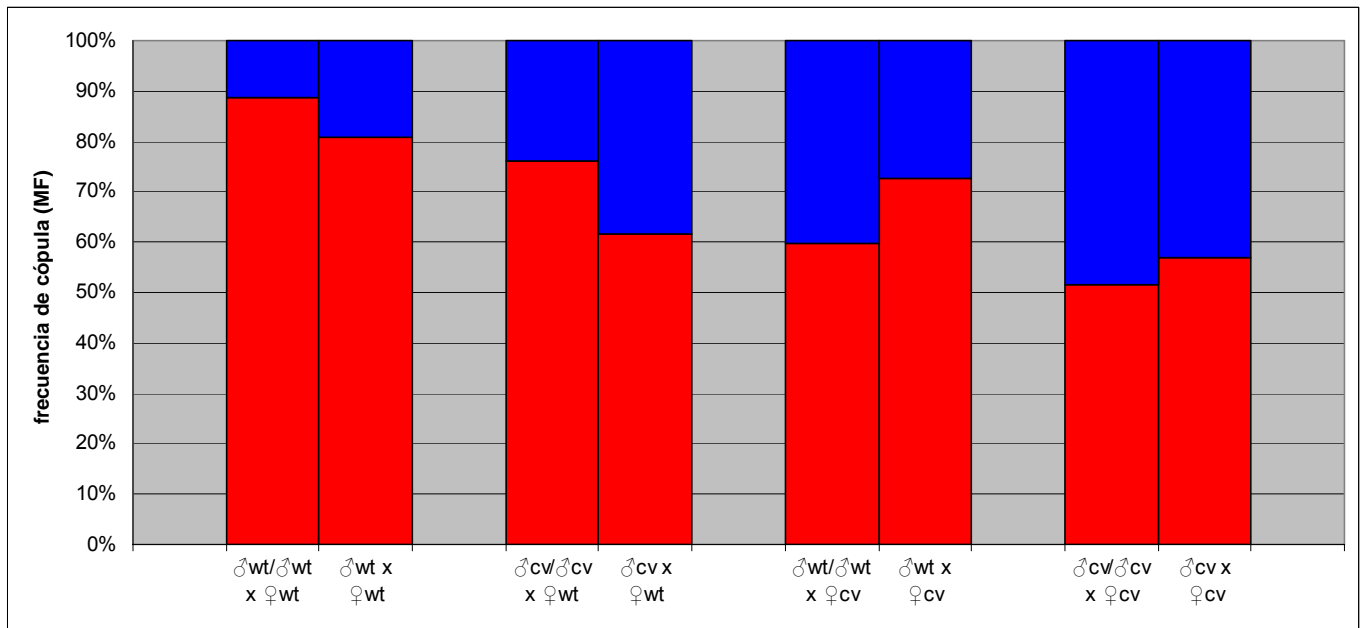


Figura 7.1 Frecuencia de cópula (MF) y tiempo hasta la cópula (CL) de todos los tipos de experimentos en que compiten dos machos iguales realizados en la cámara de apareamiento. Junto a estos valores se presentan los de los experimentos en que participan los mismos tipos de moscas pero en los que no hubo competición. En los valores de CL (segunda gráfica) las barras de error corresponden al el error típico de la media, de modo que cuando las barras no solapan las diferencias de talla entre los dos tipos de experimentos son significativas

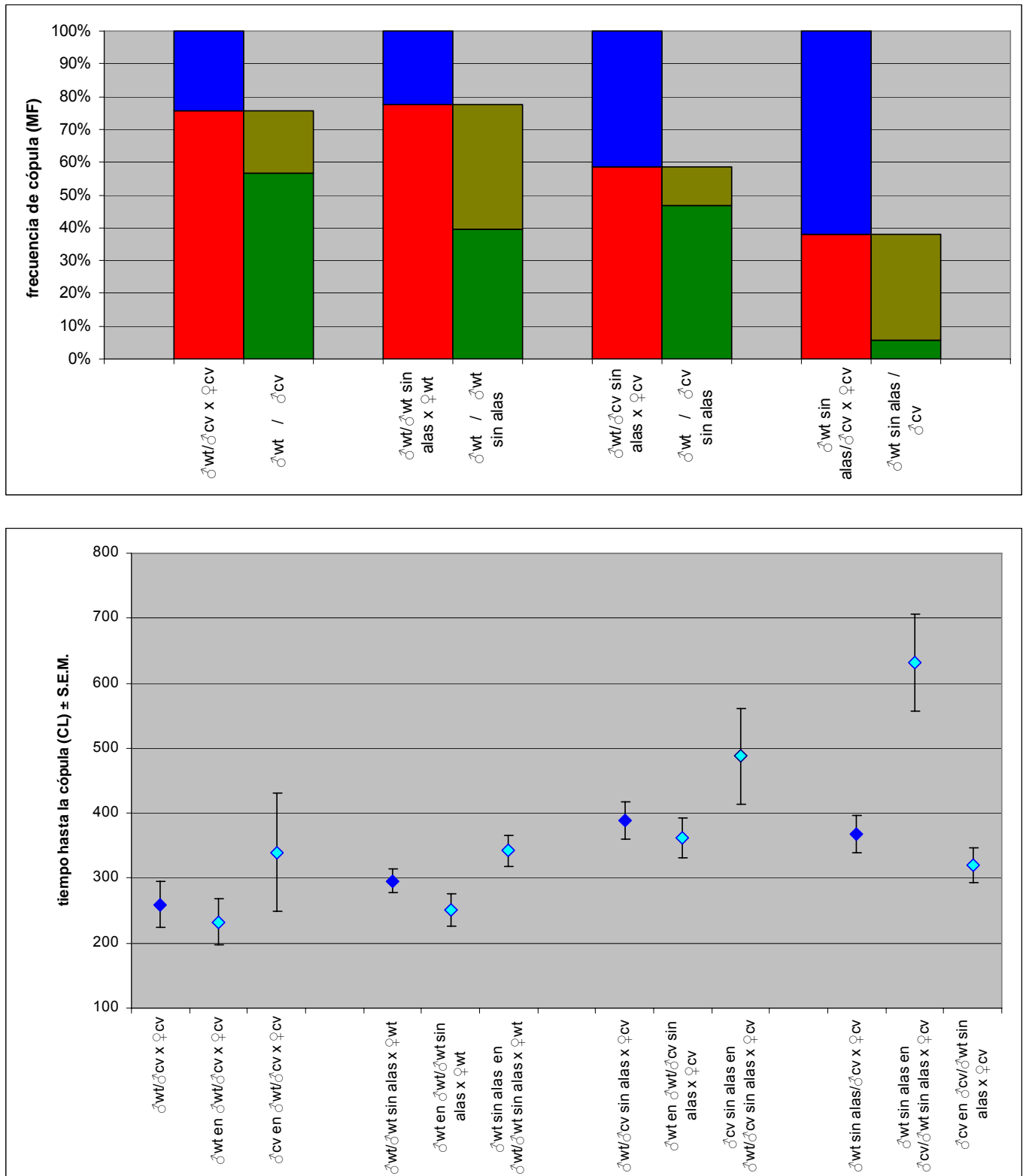


Figura 8.1: Frecuencia de cópula (MF) y tiempo hasta la cópula (CL) de todos los tipos de experimentos en que compiten dos machos diferentes realizados en la cámara de apareamiento. Es la primera ocasión en que tenemos que distinguir entre la frecuencia de cópula de la hembra (rojo) y la de cada una de los machos participantes (en dos tonos de verde). Así mismo debemos diferenciar entre el tiempo hasta la cópula de la hembra (azul oscuro) y de cada uno de los machos participantes (puntos azul claro). En los valores de CL (segunda gráfica) las barras de error corresponden al error típico de la media, de modo que cuando las barras no solapan las diferencias de talla entre los dos tipos de experimentos o entre los dos machos son significativas.

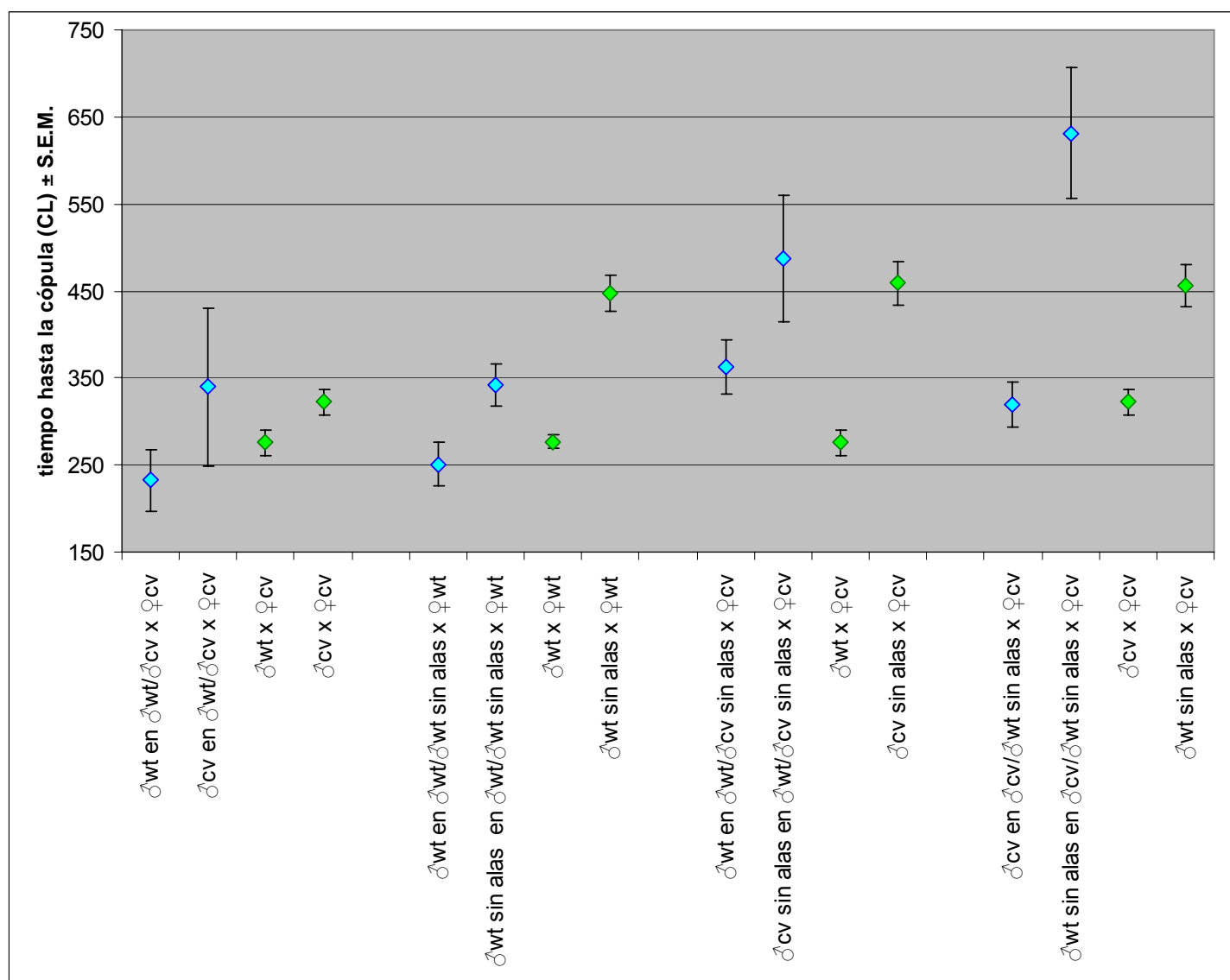


Figura 8.2: Tiempo hasta la cópula (CL) de los machos que intervienen en cada uno de los tipos de experimentos en que compiten dos machos diferentes realizados en la cámara de apareamiento. Junto a los valores de CL que presentanm estos machos (puntos azules) se presentan los valores que obtuvieron cuando se les presento la hembra en solitario (experimentos sin competición; puntos verdes). De nuevo las barras de error corresponden al el error típico de la media, de modo que cuando las barras no solapan las diferencias de talla entre los dos tipos de experimentos o entre los dos machos son significativas.

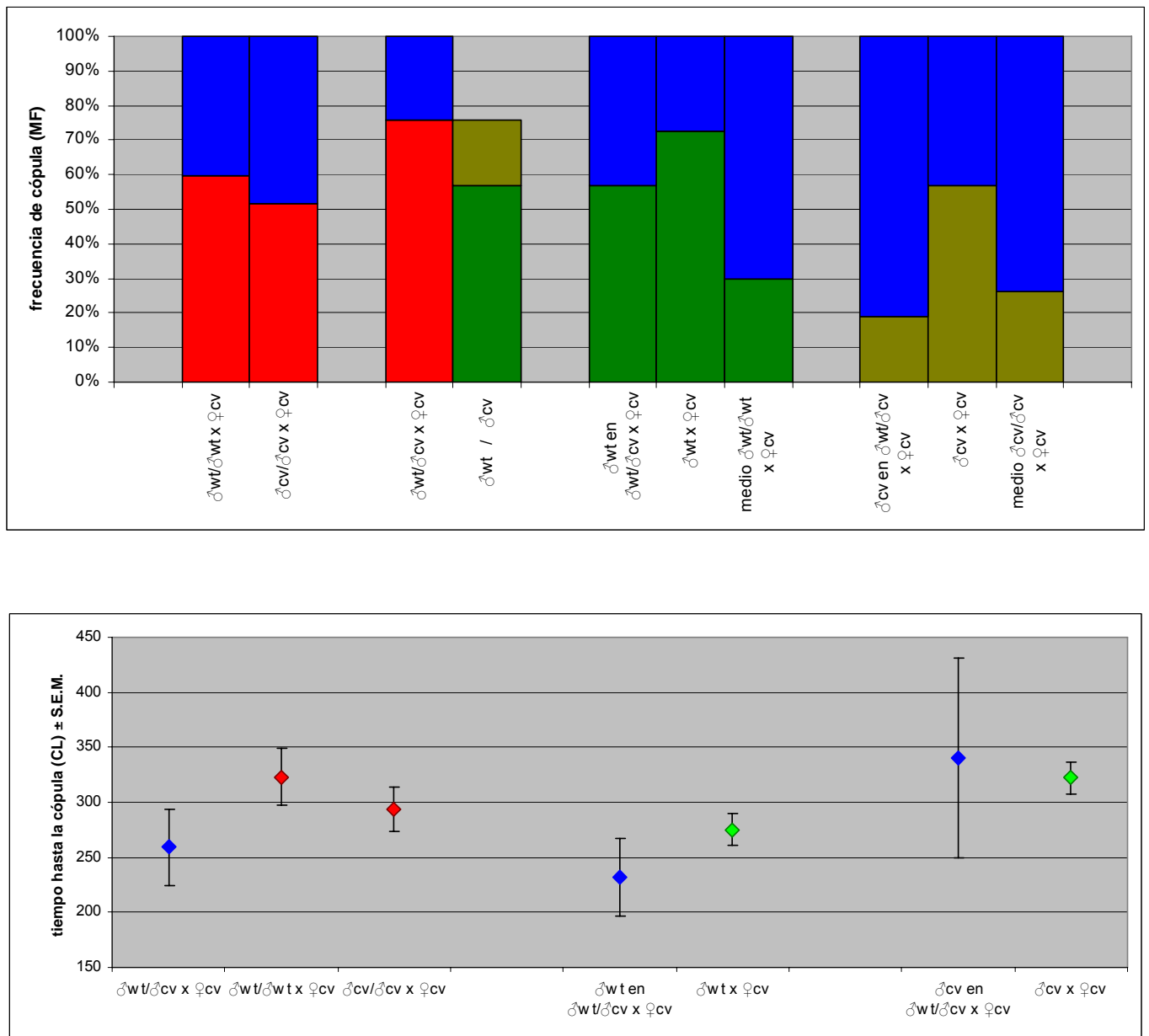


Figura 8.3: Frecuencia de cópula (MF) y tiempo hasta la cópula (CL) tanto para el macho como para la hembra de los experimentos en que competía un macho wt con uno cv por copular con una hembra cv. Además de estos valores se incluyen aquellos correspondientes a los tipos de experimentos con los que es interesante contrastar estos valores, como los experimentos en que esa hembra se encontró con estos mismos machos en solitario o aquellos en que compitieron dos machos idénticos a alguno de los que participan en este experimento por copular con una hembra también del mismo tipo.

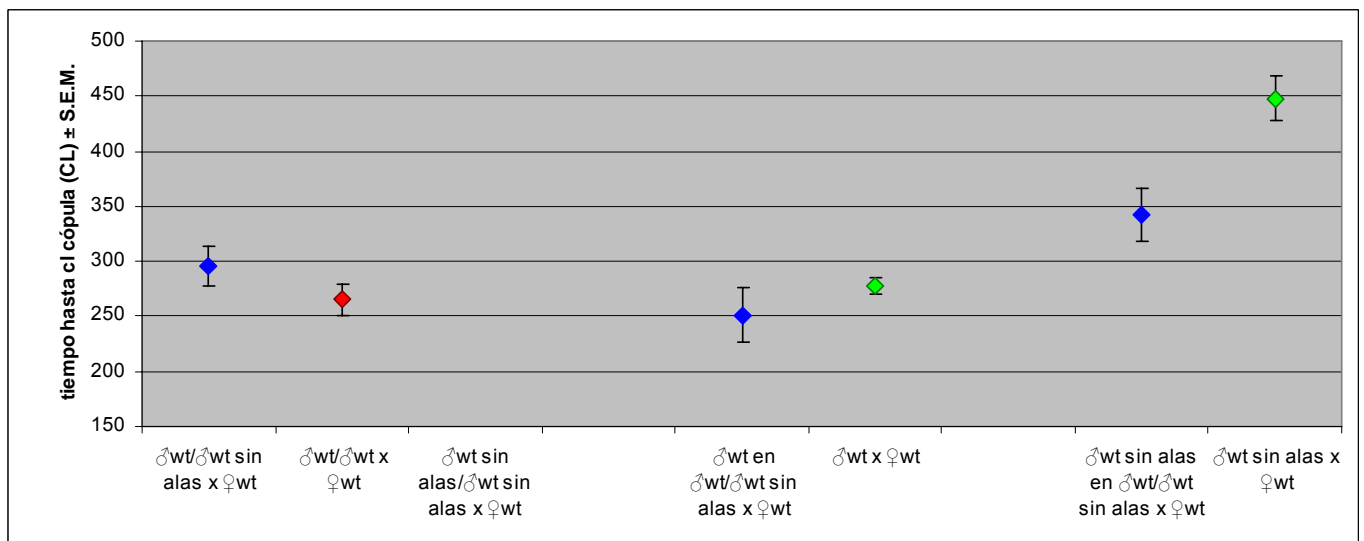
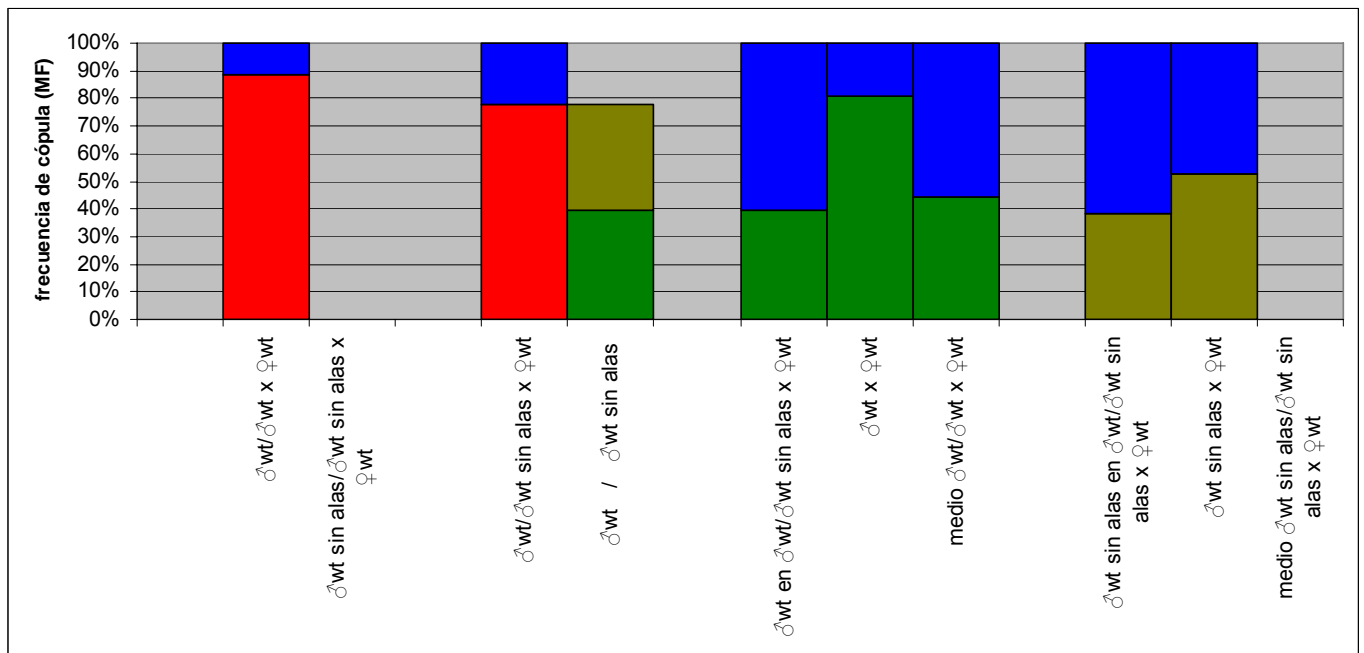


Figura 8.4: Frecuencia de cópula (MF) y tiempo hasta la cópula (CL) tanto para el macho como para la hembra de los experimentos en que competía un macho wt con otro wt sin alas por copular con una hembra wt. Además de estos valores se incluyen aquellos correspondientes a los tipos de experimentos con los que es interesante contrastar estos valores, como los experimentos en que esa hembra se encontró con estos mismos machos en solitario o aquellos en que compitieron dos machos idénticos a alguno de los que participan en este experimento por copular con una hembra también del mismo tipo. Es importante recordar que no realizamos experimentos con dos machos iguales sin alas que, por tanto, los valores de MF y CL para estos experimentos no están recogidos en las gráficas.

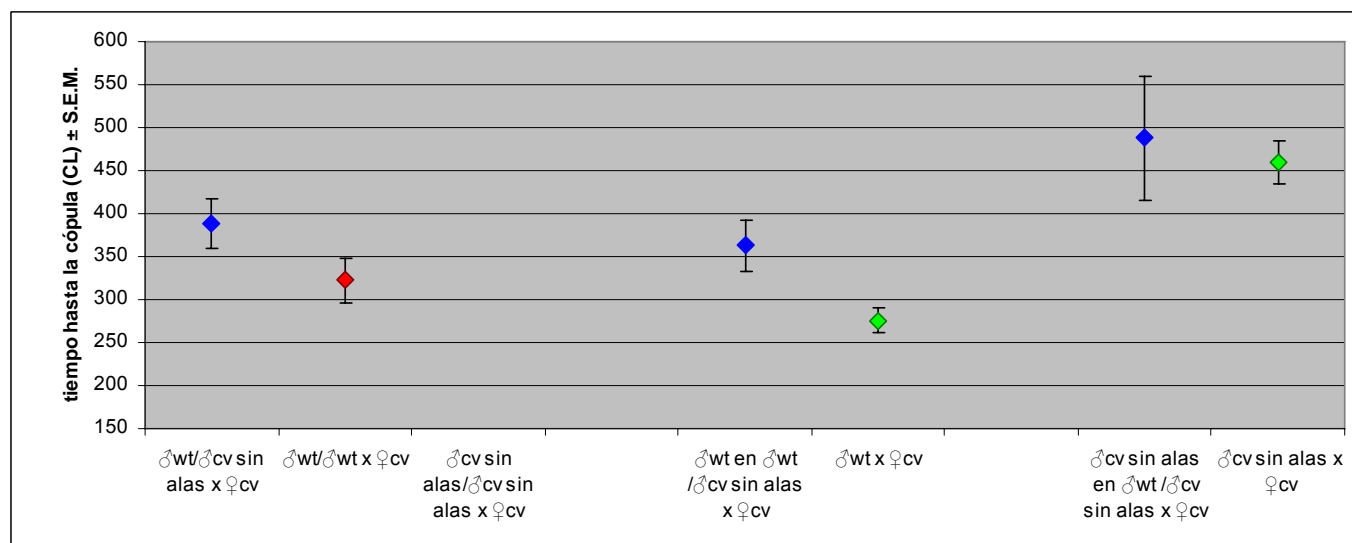
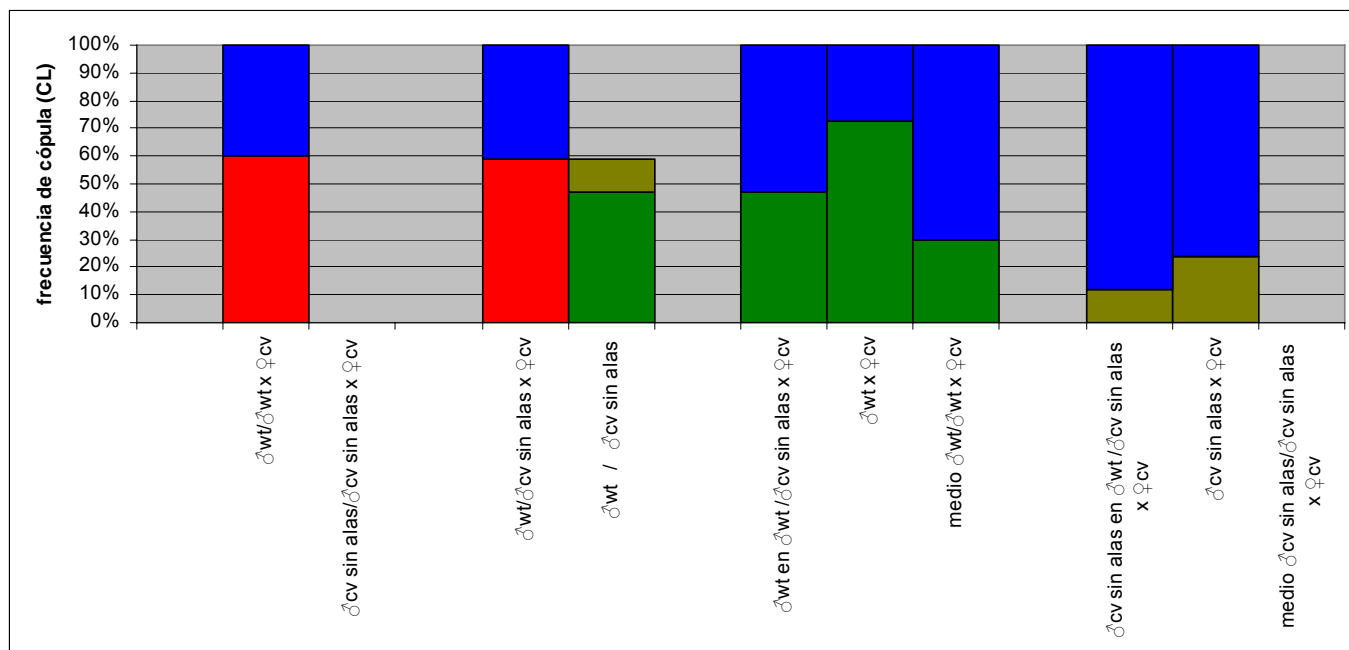


Figura 8.5: Frecuencia de cópula (MF) y tiempo hasta la cópula (CL) tanto para el macho como para la hembra de los experimentos en que competía un macho wt con un macho cv sin alas por copular con una hembra cv. Además de estos valores se incluyen aquellos correspondientes a los tipos de experimentos con los que es interesante contrastar estos valores, como los experimentos en que esa hembra se encontró con estos mismos machos en solitario o aquellos en que compitieron dos machos idénticos a alguno de los que participan en este experimento por copular con una hembra también del mismo tipo. Es importante recordar que no realizamos experimentos con dos machos iguales sin alas que, por tanto, los valores de MF y CL para estos experimentos no están recogidos en las gráficas.

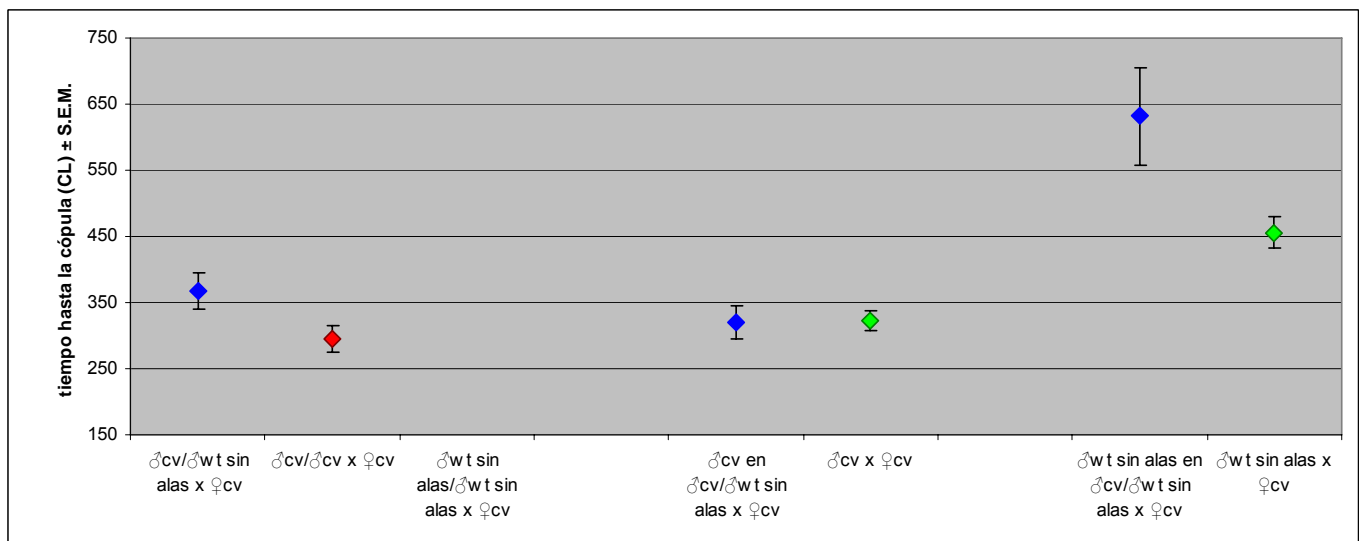
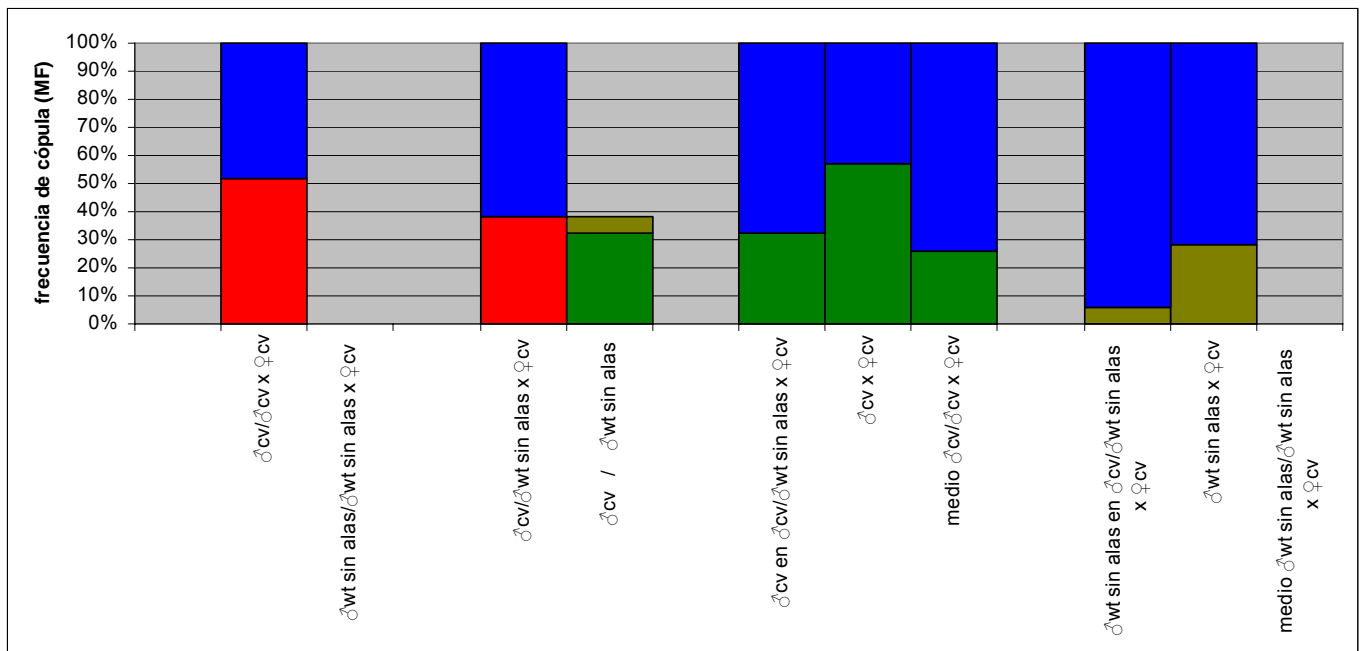
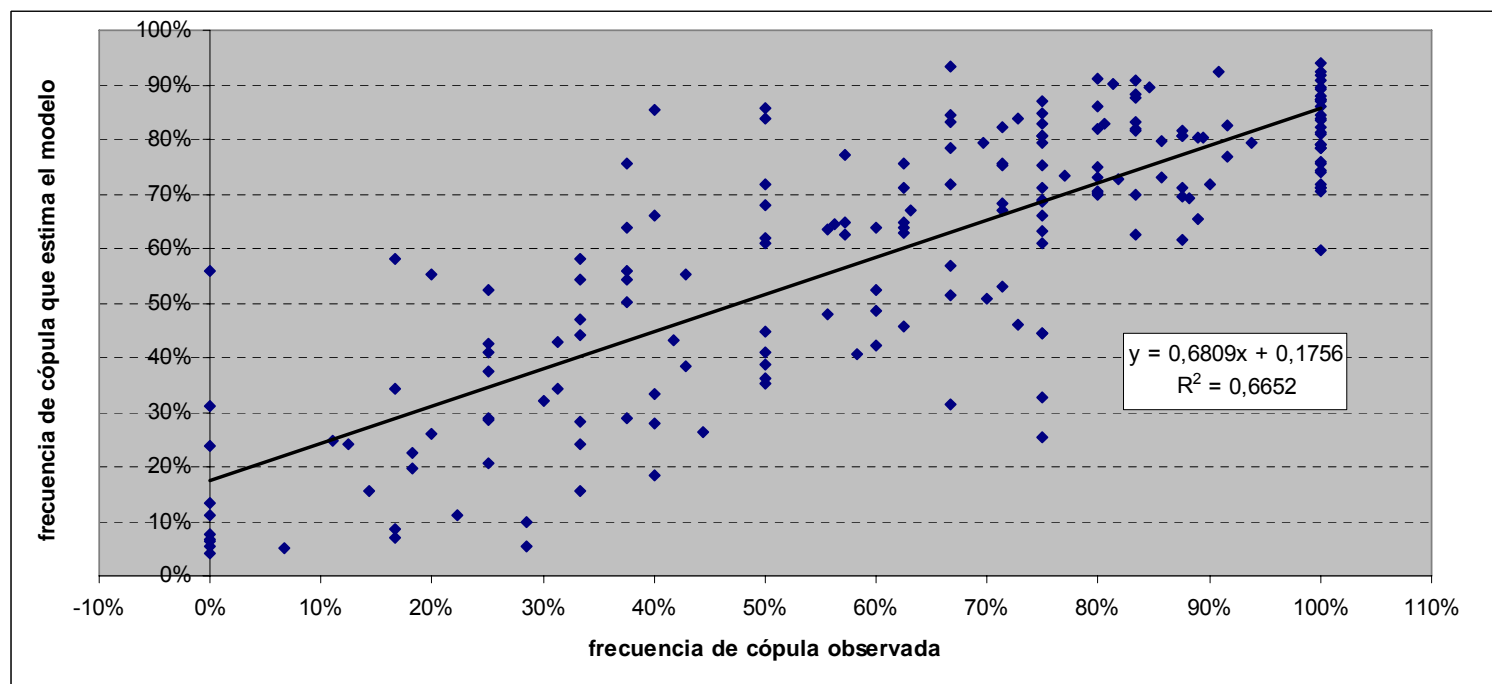
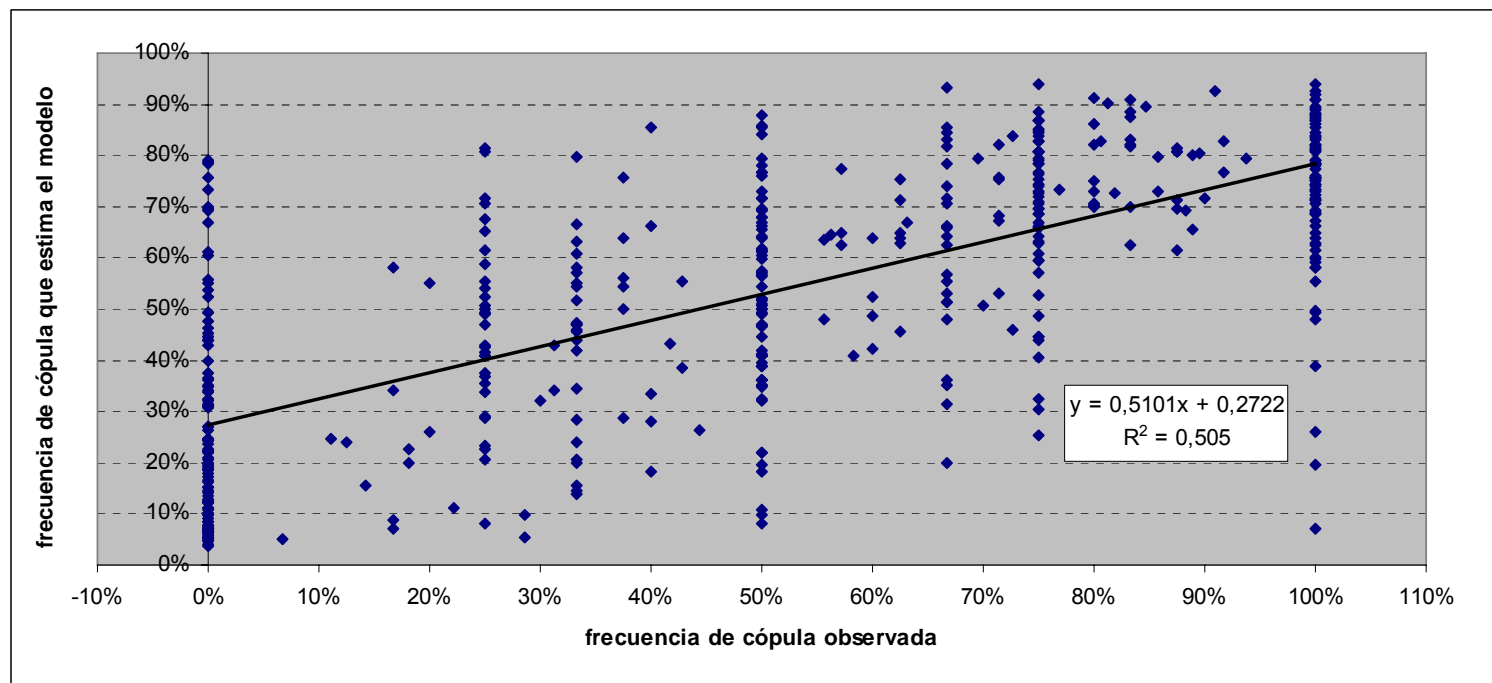


Figura 8.6: Frecuencia de cópula (MF) y tiempo hasta la cópula (CL) tanto para el macho como para la hembra de los experimentos en que competía un macho cv con un macho wt sin alas por copular con una hembra cv. Además de estos valores se incluyen aquellos correspondientes a los tipos de experimentos con los que es interesante contrastar estos valores, como los experimentos en que esa hembra se encontró con estos mismos machos en solitario o aquellos en que compitieron dos machos idénticos a alguno de los que participan en este experimento por copular con una hembra también del mismo tipo. Es importante recordar que no realizamos experimentos con dos machos iguales sin alas que, por tanto, los valores de MF y CL para estos experimentos no están recogidos en las gráficas.

Figura 9.1: Relación que existe entre las frecuencias reales de cópula observadas para las diferentes clases de experimentos y los valores de probabilidad de cópula (frecuencia de cópula estimada) que estima la regresión logística. En dicha regresión se consideran como variables los genotipos de machos y hembras, la edad de las moscas, la hora del día, el mes, la interacción de los genotipos de hembra y mecho con la presencia de alas y las interacciones de la variable mes con el genotipo de la hembra y la presencia de alas. En la primera gráfica se enfrentan estos valores para la totalidad de las clases de experimentos y en la segunda solamente los de aquellas clases que contenían más de cuatro experimentos. En cada una de estas gráficas se presenta la recta de regresión que mejor ajusta a la nube de puntos junto con la ecuación que la define y su R^2 .



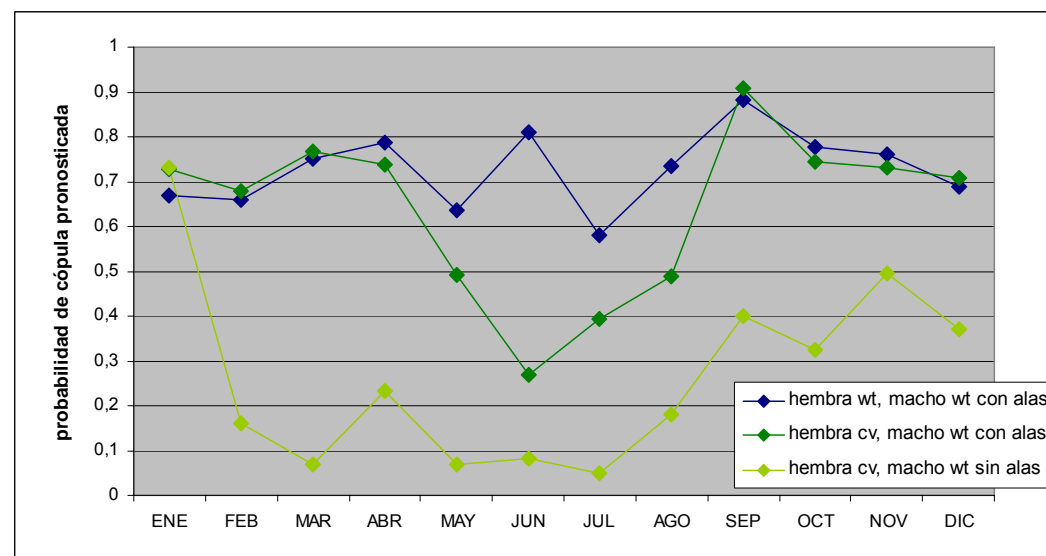
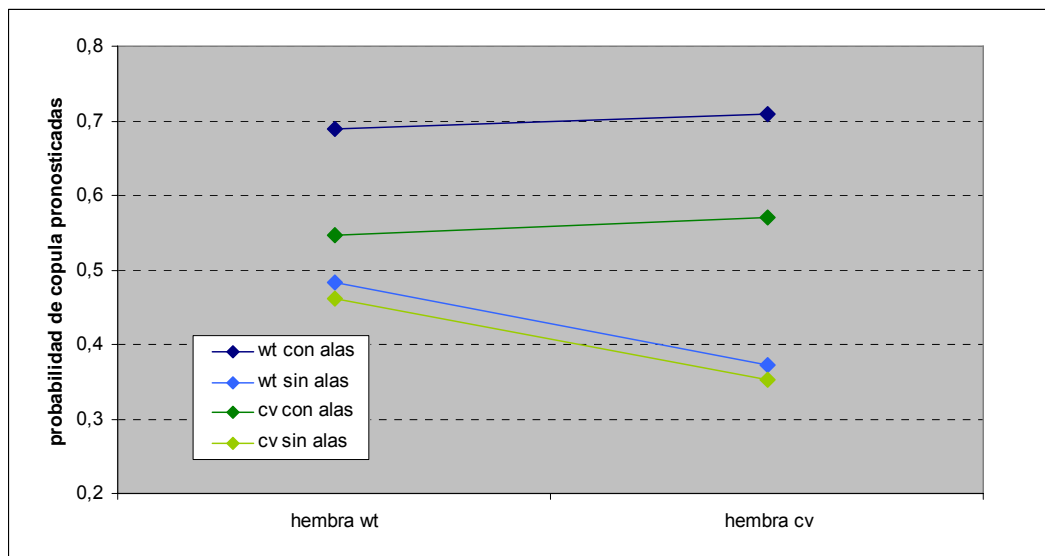
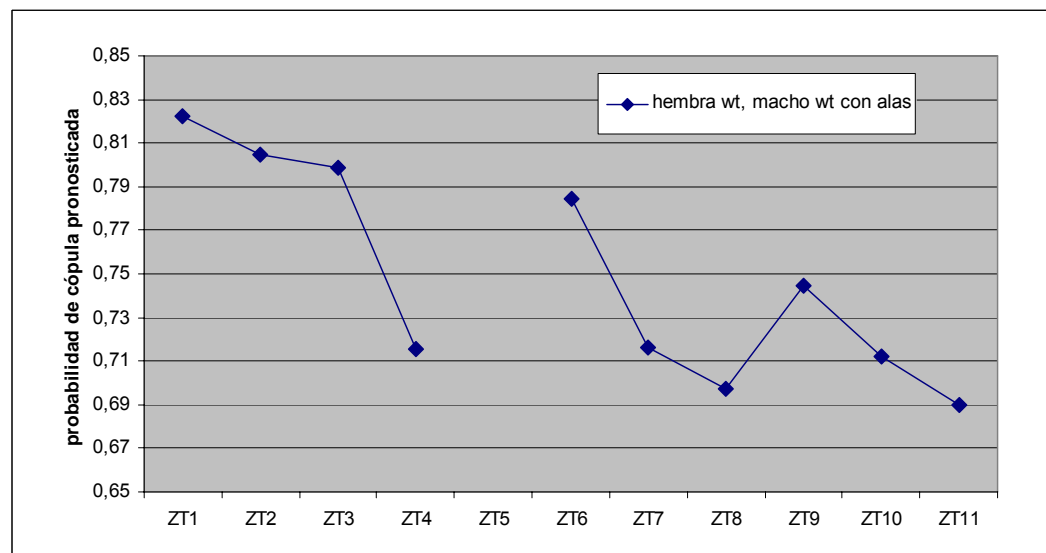


Figura 9.2: Efecto de diferentes variables sobre la probabilidad de copular en experimentos sin competición que estima la regresión logística. Este efecto se analiza en condiciones en que se ha compensado el efecto de las demás variables. En la primera gráfica se observa el efecto sobre dicha probabilidad del genotipo del macho y de la hembra y de la presencia de alas. En la segunda gráfica observamos el efecto del mes que se realiza el experimento sobre tres tipos de experimentos distintos. Y en la tercera lo que se recoge es el efecto de la hora del día sobre esta probabilidad.



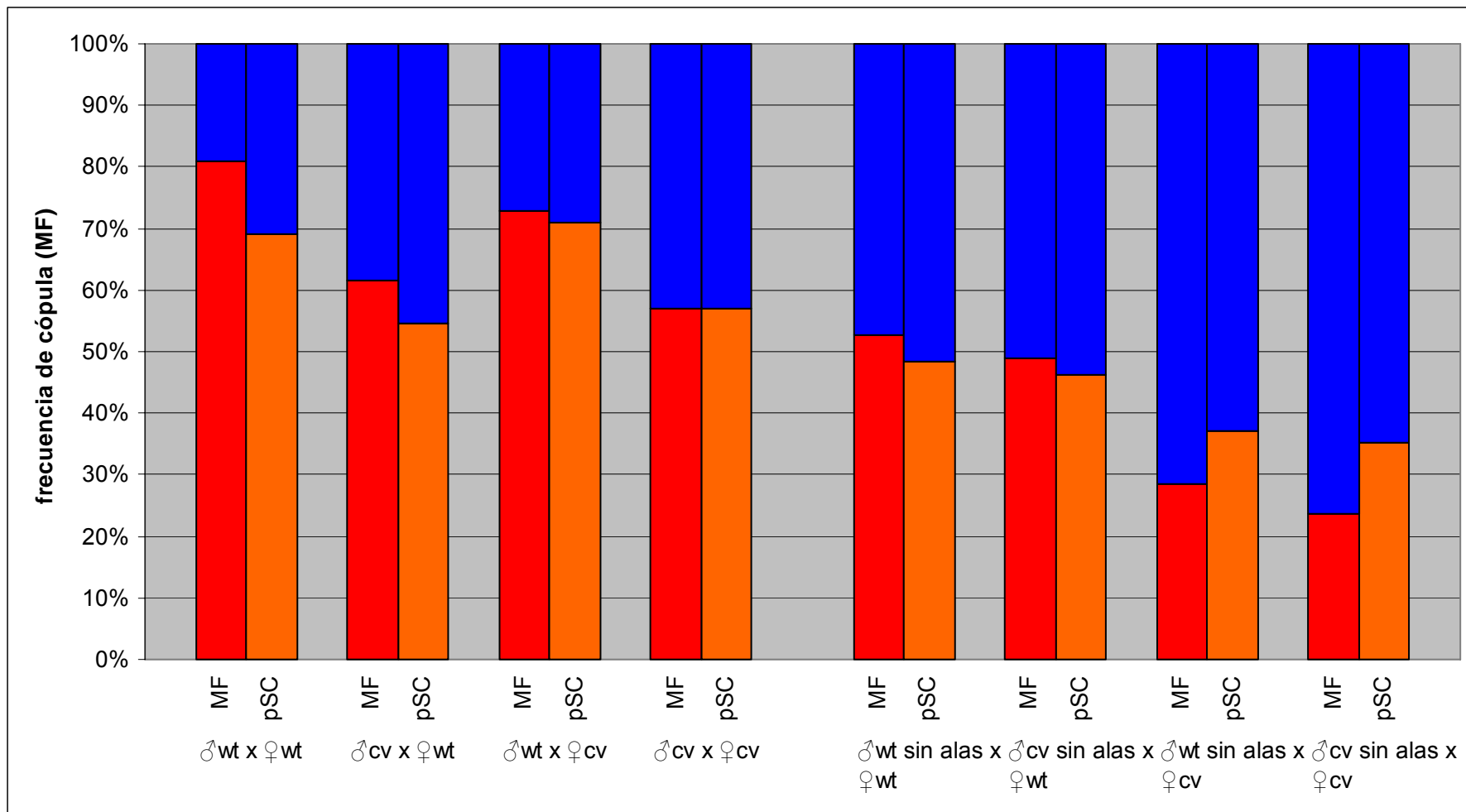


Figura 9.3: Comparación de los valores de frecuencia de cópula que estima la regresión logística (probabilidad de cópula sin competición) y la frecuencia de cópula recogida en esos mismos tipos de experimentos. Pese a que en un caso se controlan los efectos de las variables edad, hora del día y mes y en el otro no las diferencias entre unos y otros valores no son muy llamativas.

Figura 10.1: Comparación entre la frecuencia de cópula de la hembra en experimentos en que compiten dos machos iguales y esta misma frecuencia en experimentos sin competición. Esta MF sin competición que comparamos puede ser la observada experimentalmente en algunos casos (puntos rojos) o la estimada con la regresión logística para cada una de las clases de experimentos (puntos azules). Presentamos los resultados obtenidos para la totalidad de las clases (primer gráfico) y sólo para aquellas clases con más de cuatro casos (segundo gráfico). En cada una de estas gráficas se presenta dos rectas de regresión que ajustan a las dos nubes de puntos (roja y azul) junto con la ecuación que las define y sus R^2 .

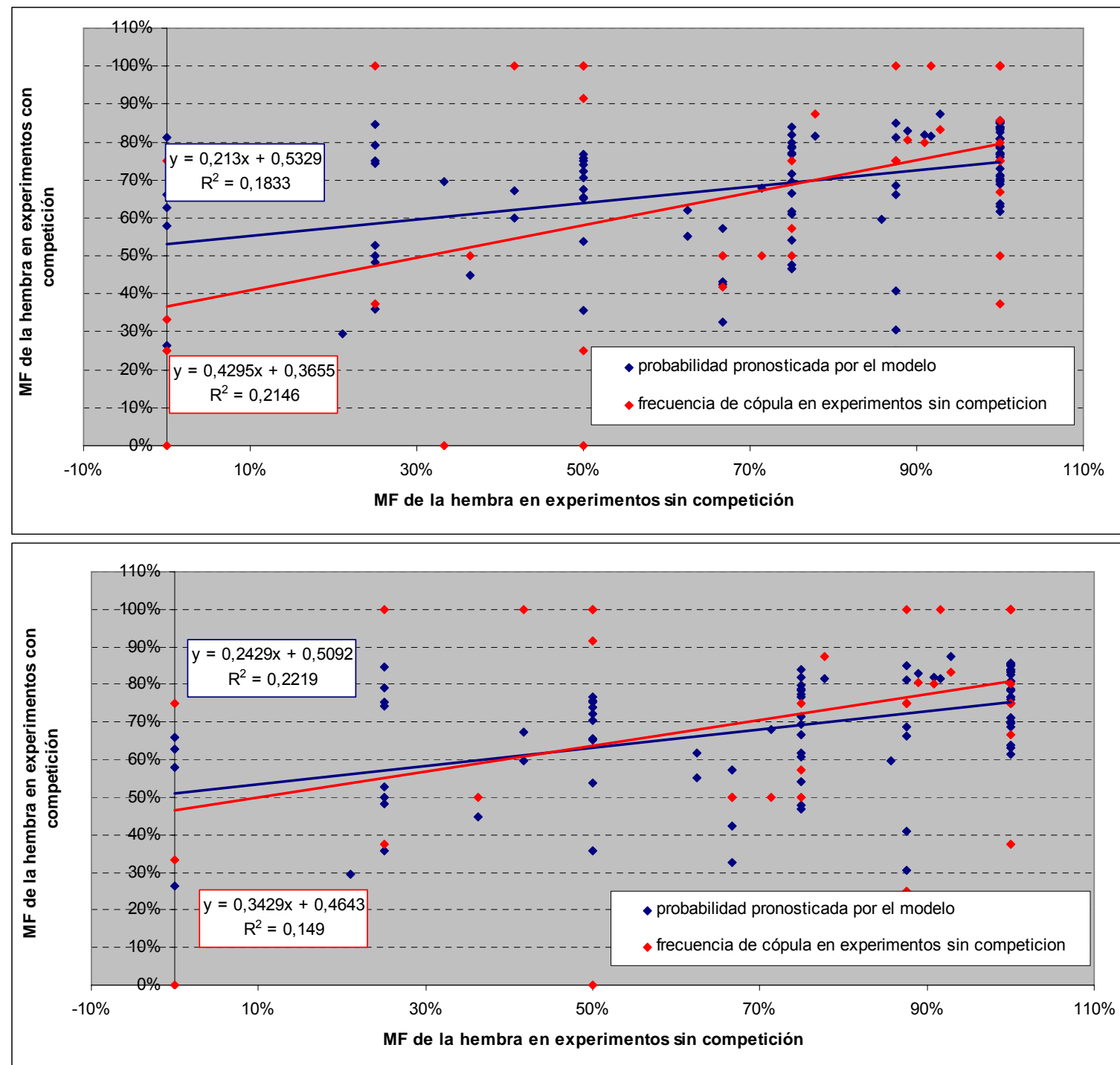
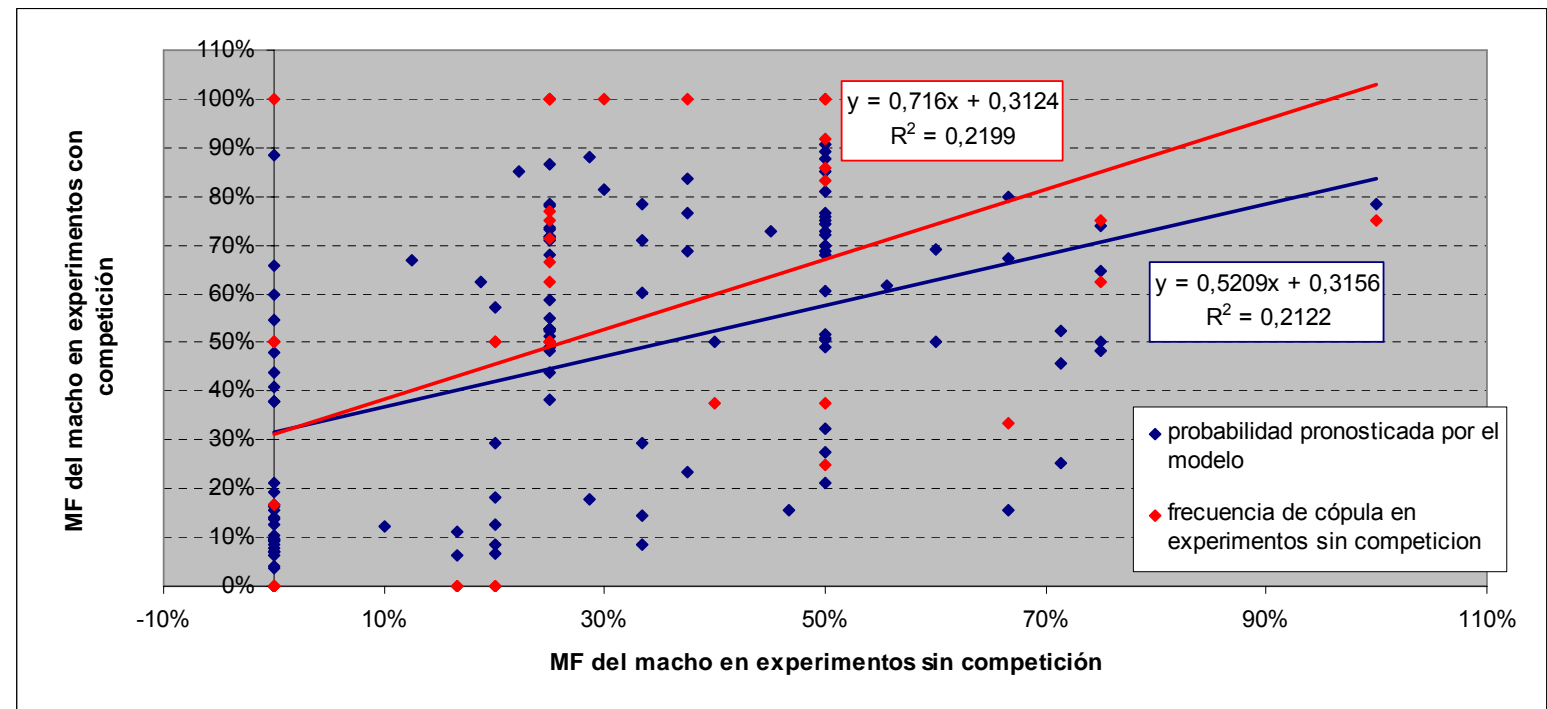
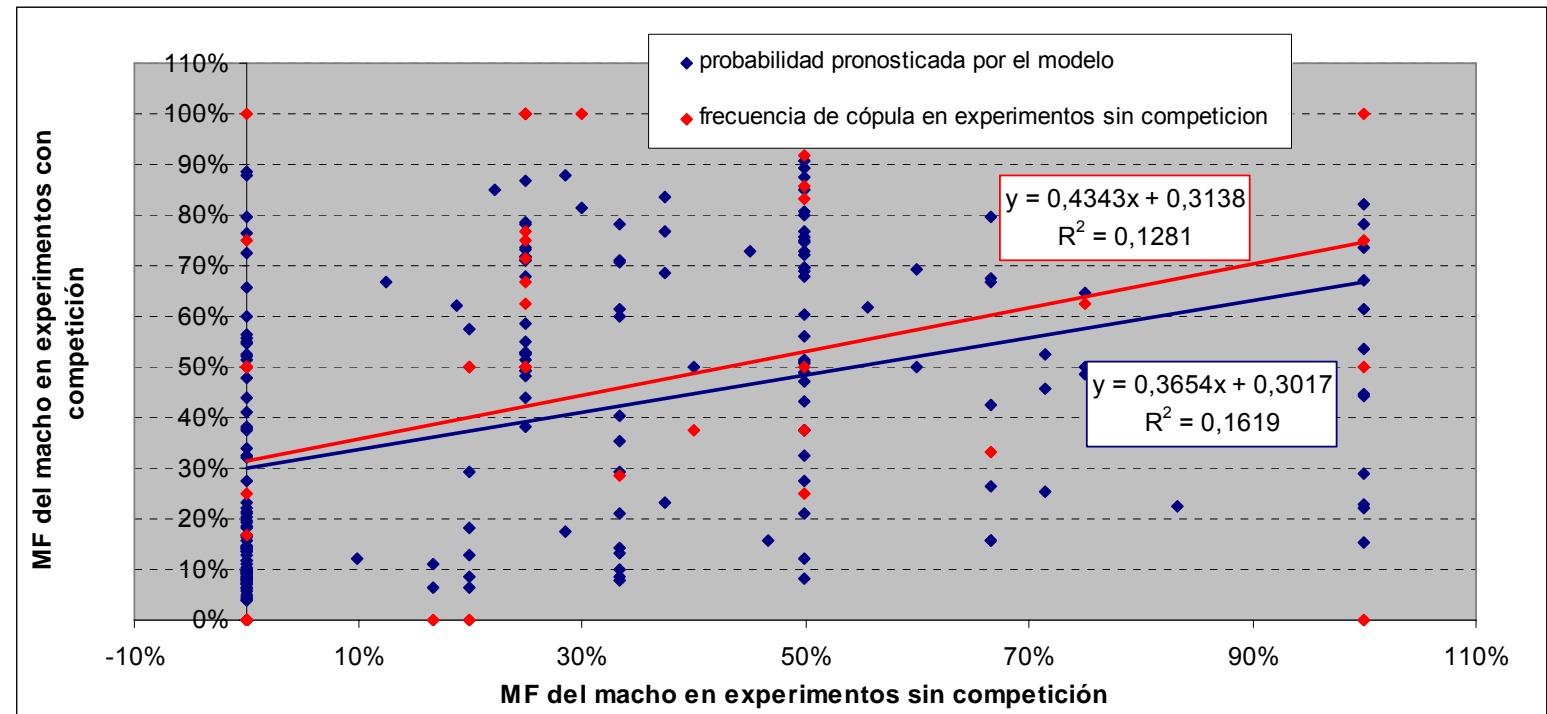


Figura 10.2 Comparación entre la frecuencia de cópula de los machos en experimentos en que compiten dos machos diferentes y esta misma frecuencia en experimentos sin competición. Esta MF sin competición que comparamos puede ser la observada experimentalmente en algunos casos (puntos rojos) o la estimada con la regresión logística para cada una de los tipos de machos (puntos azules). Presentamos los resultados obtenidos para la totalidad de las clases (primer gráfico) y sólo para aquellas clases con más de cuatro casos (segundo gráfico). En cada una de estas gráficas se presenta dos rectas de regresión que ajustan a las dos nubes de puntos (roja y azul) junto con la ecuación que las define y sus R^2 .



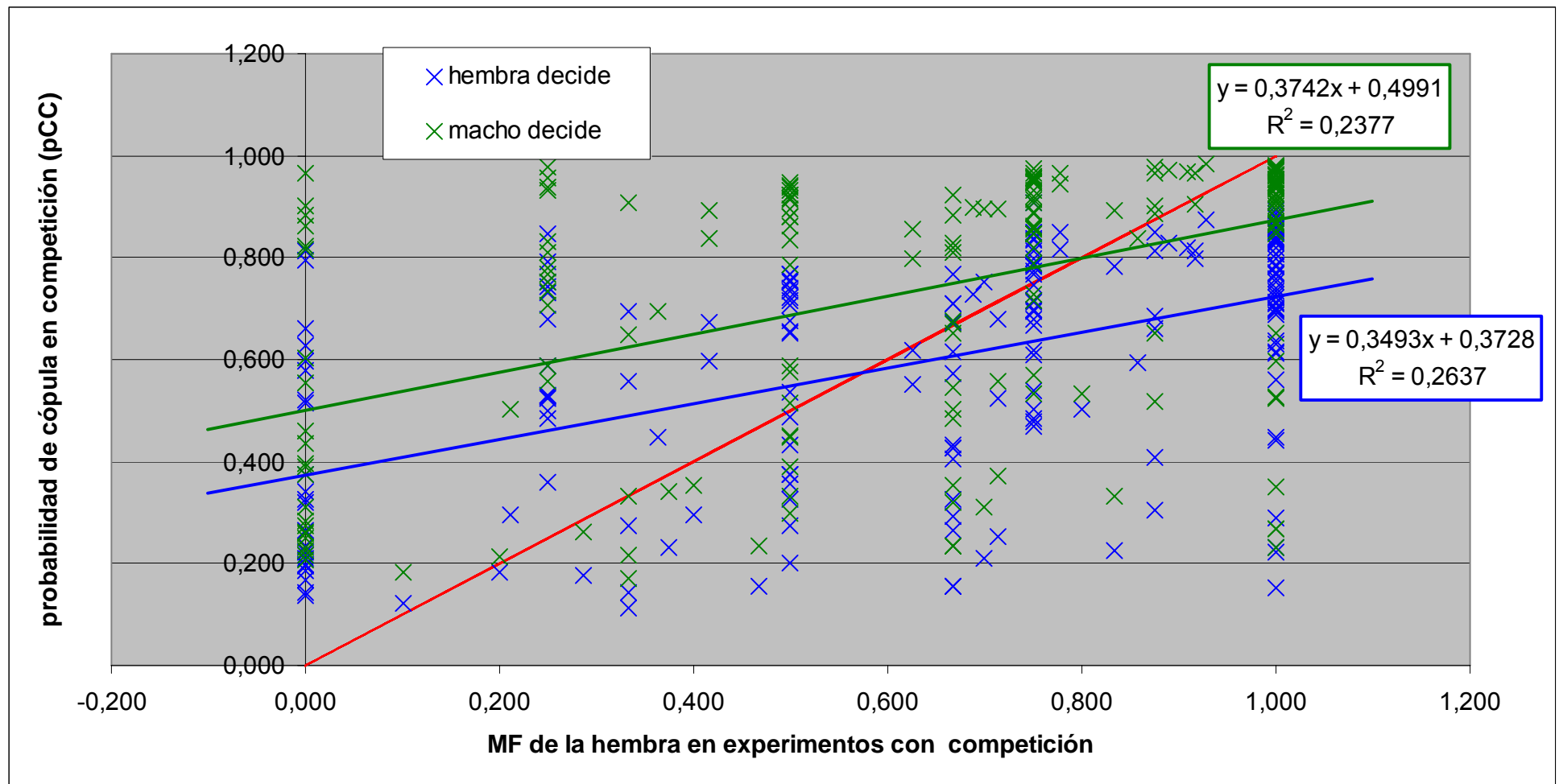


Figura 10.3: Comparación gráfica de los valores de frecuencia de cópula observados en experimentos con competición y las probabilidades de cópula (p_{CC}) obtenidas según consideremos que este valor depende exclusivamente de la propensión a copular de la hembra (p_{CC} femenina; cruces azules) o depende de las habilidades para lograr copular de ambos machos (cruces verdes). Se presentan conjuntamente estos valores para los ocho tipos diferentes de experimentos en que compiten dos machos, sean o no diferentes entre sí. En la gráfica se muestran dos rectas de regresión que ajustan a las dos nubes de puntos (verde y azul) junto con la ecuación que las define y sus R^2 .

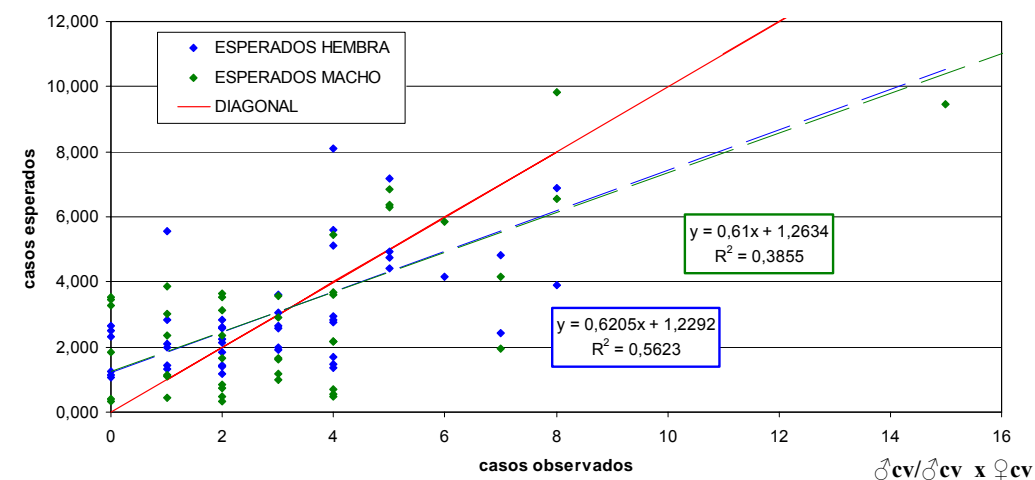
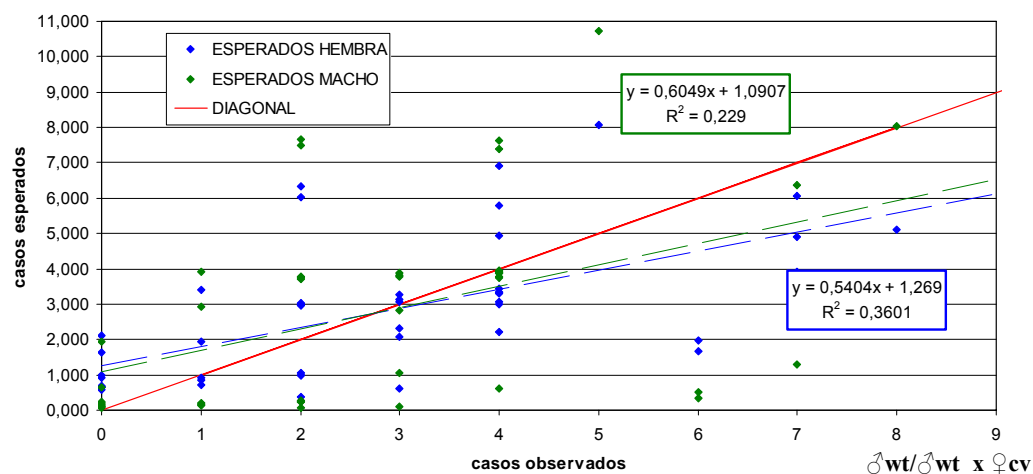
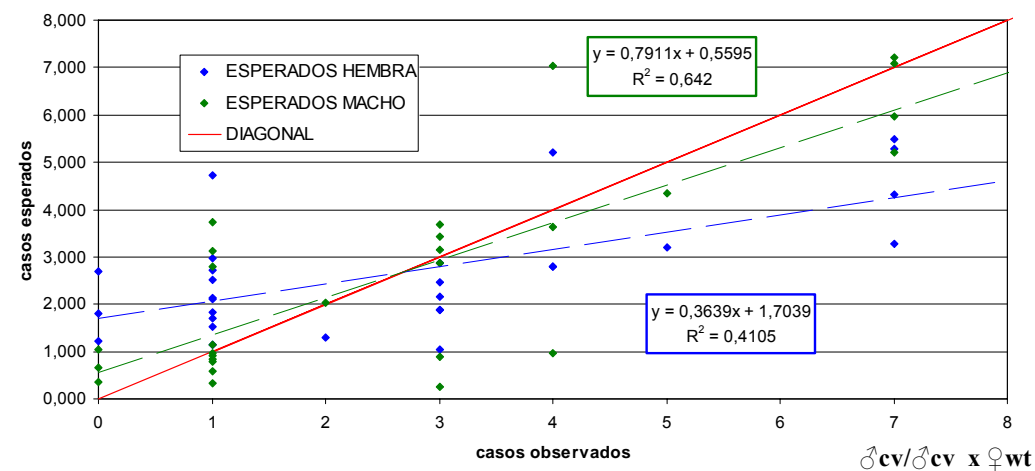
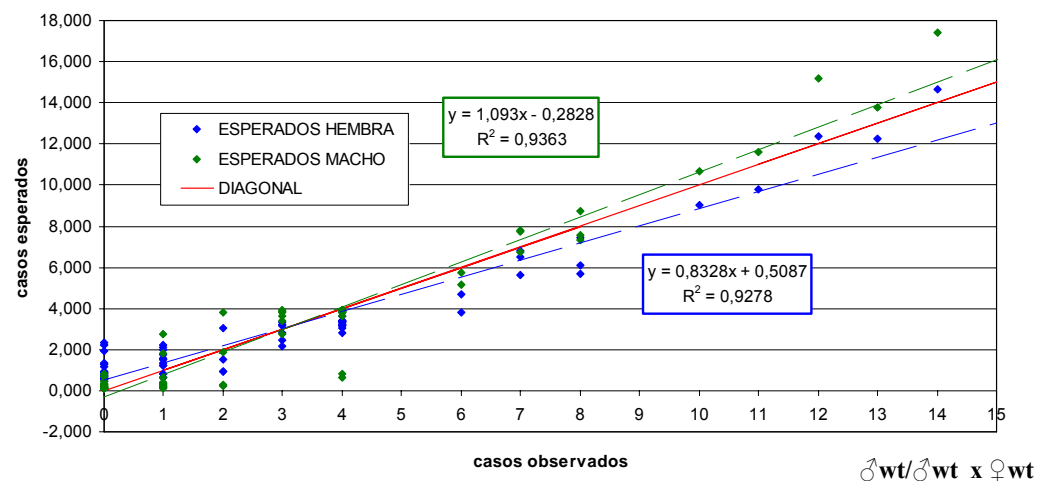


Figura 10.4 Comparación gráfica entre los casos de cópula (y de no cópula) observados y esperados en cada una de las clases de experimentos de los cuatro tipos de experimentos en que compiten dos machos iguales. Se presenta una gráfica para cada uno de estos tipos de experimento. En ellas se recogen los valores de los casos esperados cuando se calculan empleando la pcc masculina (puntos verdes) y cuando se calculan empleando la pcc femenina (puntos azules). En cada gráfica se presenta una línea diagonal (donde coincidirían los valores de casos observados y esperados) y dos rectas de regresión que ajustan a cada una de las nubes de puntos, con el R^2 y la ecuación que las define.

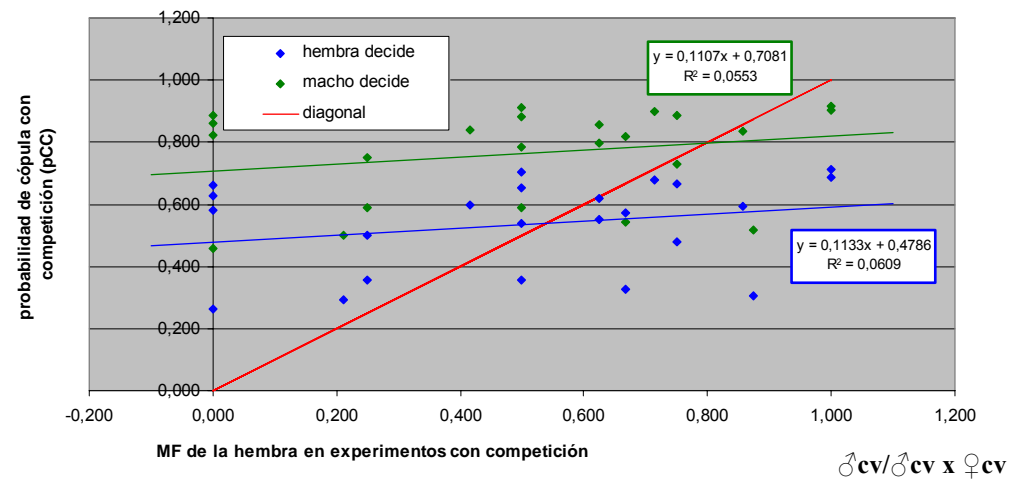
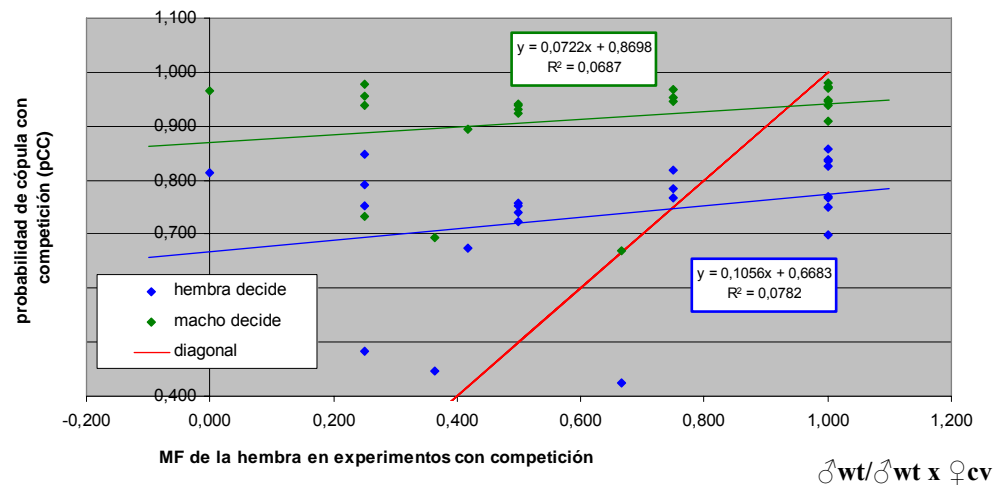
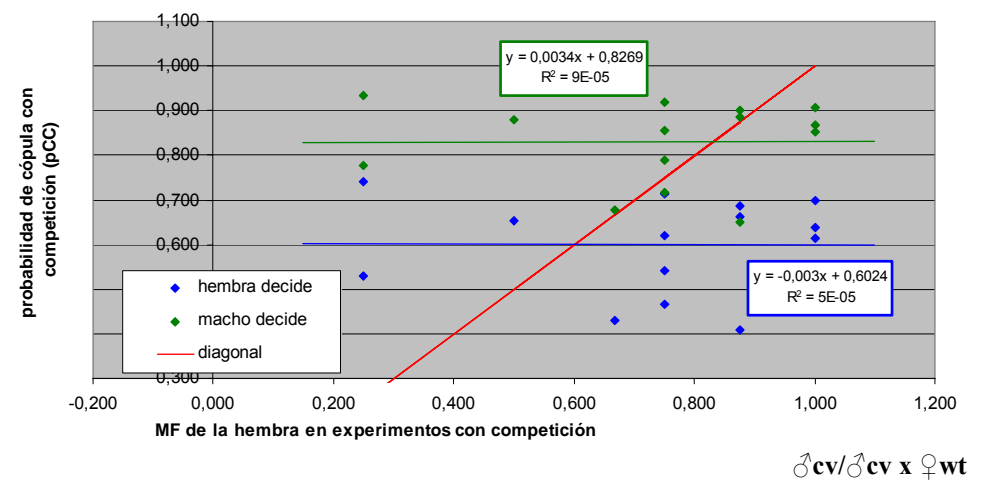
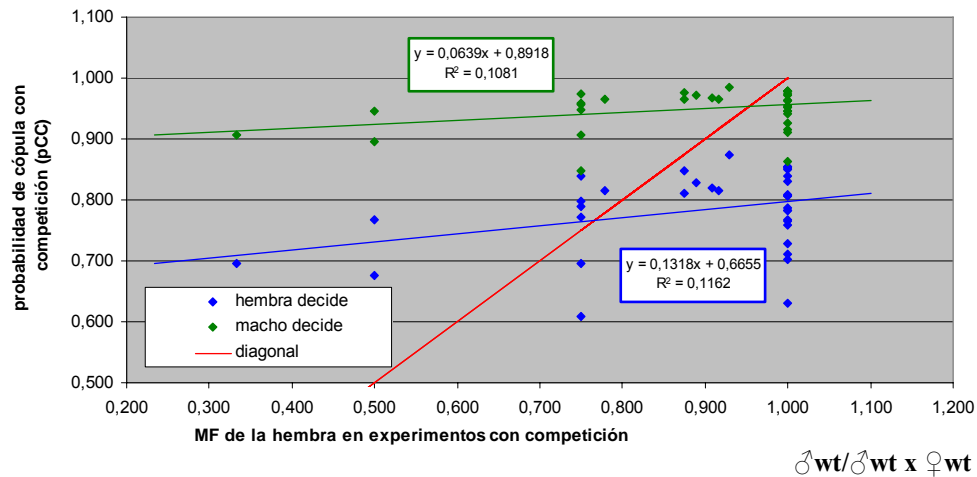


Figura 10.5: Comparación gráfica de los valores de frecuencia de cópula observados en experimentos con competición y las p_{CC} masculina (puntos verdes) y femeninas (puntos azules) para cada una de las clases de experimentos de los cuatro tipos de experimentos en que compiten dos machos iguales. Se presenta una gráfica para cada uno de estos tipos de experimento. En cada gráfica se muestran dos rectas de regresión que ajustan a las dos nubes de puntos (verde y azul) junto con la ecuación que las define y sus R^2 .

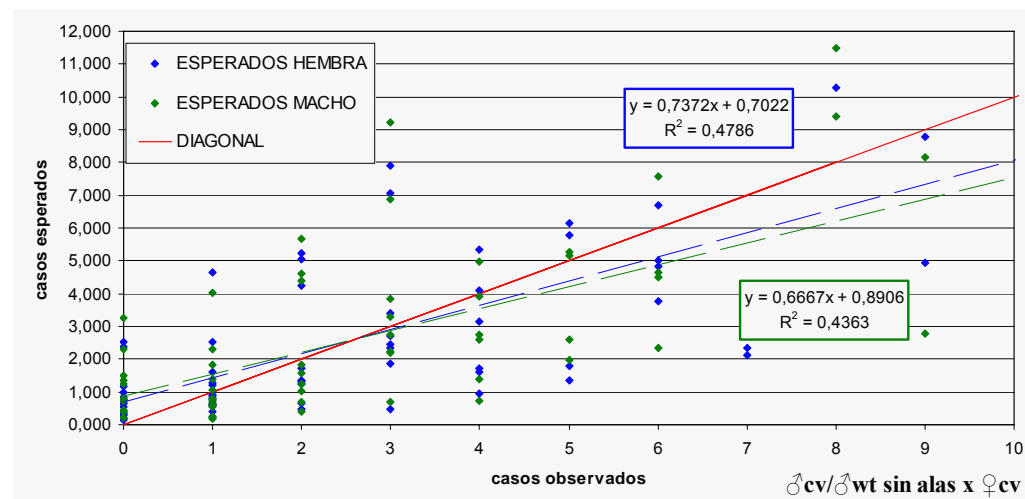
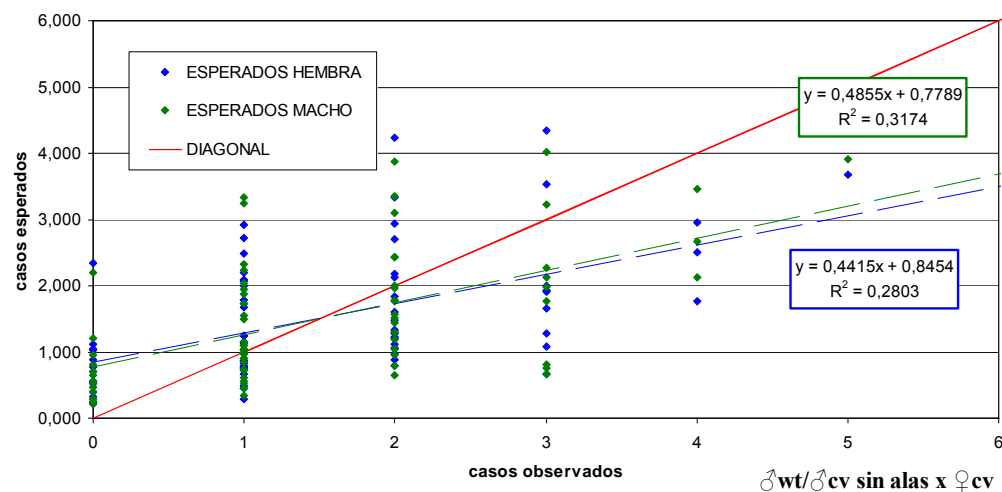
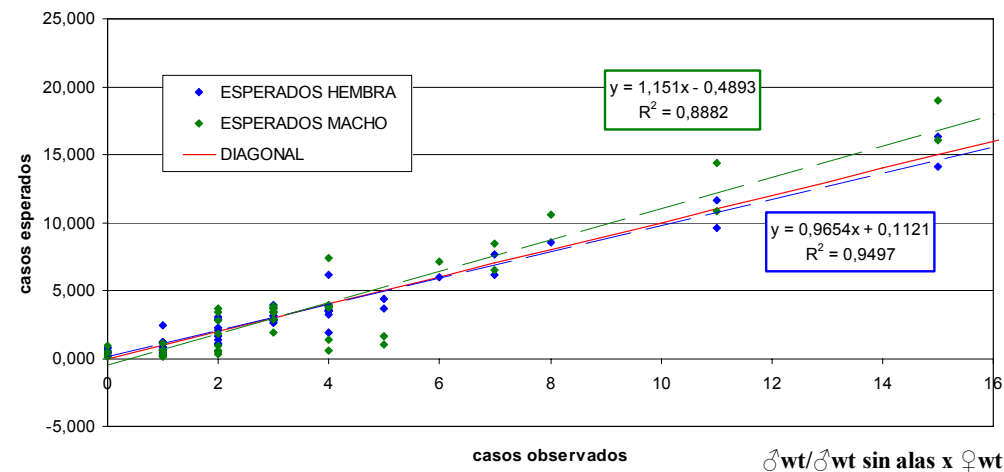
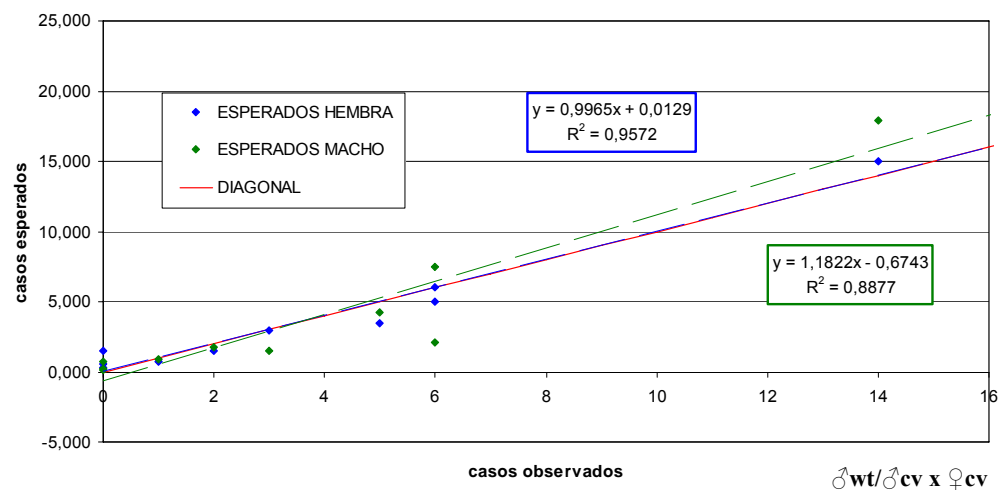


Figura 10.6: Comparación gráfica entre los casos de cópula (y de no cópula) observados y esperados en cada una de las clases de experimentos de los cuatro tipos de experimentos en que compiten dos machos diferentes. Se presenta una gráfica para cada uno de estos tipos de experimento. En ellas se recogen los valores de los casos esperados cuando se calculan empleando la p_{CC} masculina (puntos verdes) y cuando se calculan empleando la p_{CC} femenina (puntos azules). En cada gráfica se presenta una línea diagonal (donde coincidirían los valores de casos observados y esperados) y dos rectas de regresión que ajustan a cada una de las nubes de puntos, con el R^2 y la ecuación que las define.

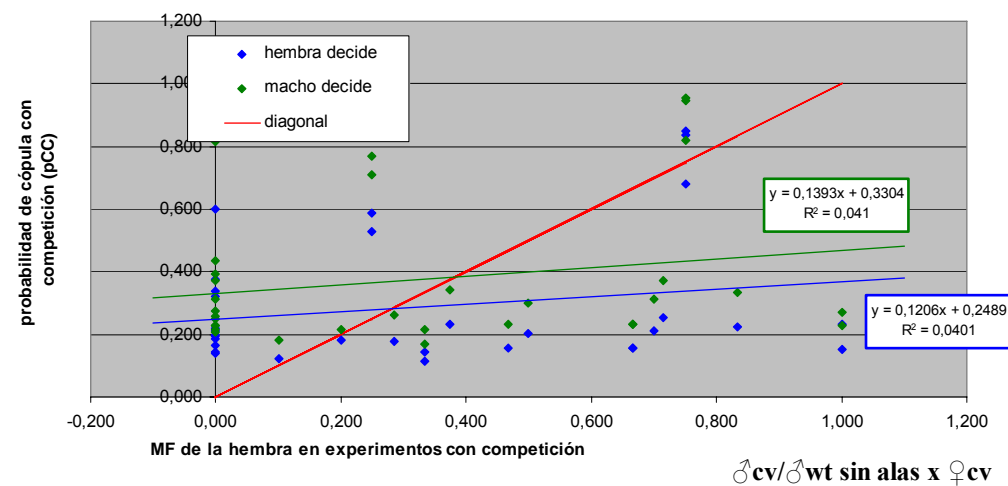
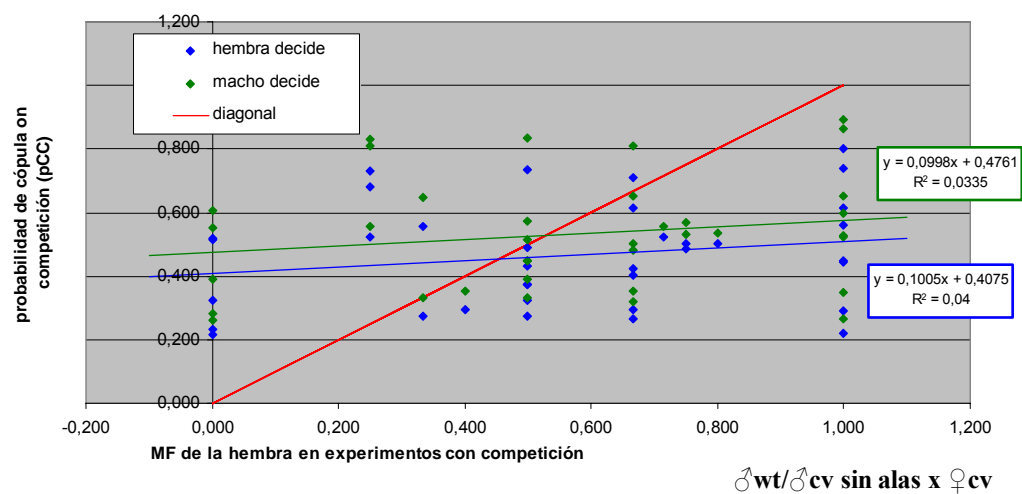
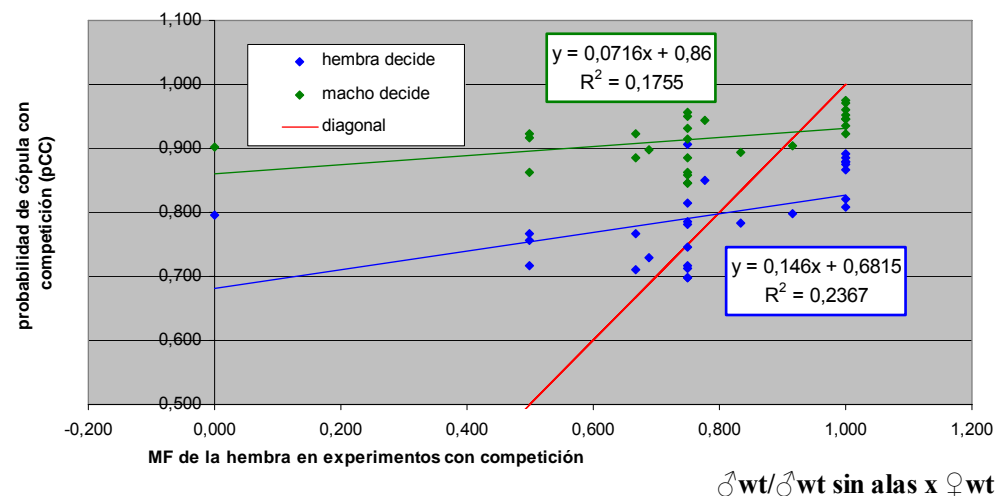
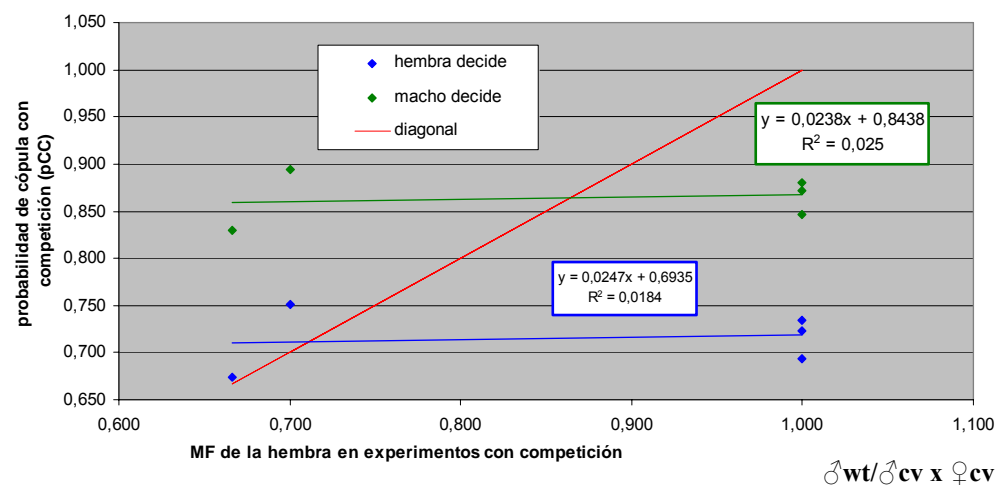


Figura 10.7: Comparación gráfica de los valores de frecuencia de cópula observados en experimentos con competición y las p_{CC} masculina (puntos verdes) y femeninas (puntos azules) para cada una de las clases de experimentos de los cuatro tipos de experimentos en que compiten dos machos diferentes. Se presenta una gráfica para cada uno de estos tipos de experimento. En cada gráfica se muestran dos rectas de regresión que ajustan a las dos nubes de puntos (verde y azul) junto con la ecuación que las define y sus R².

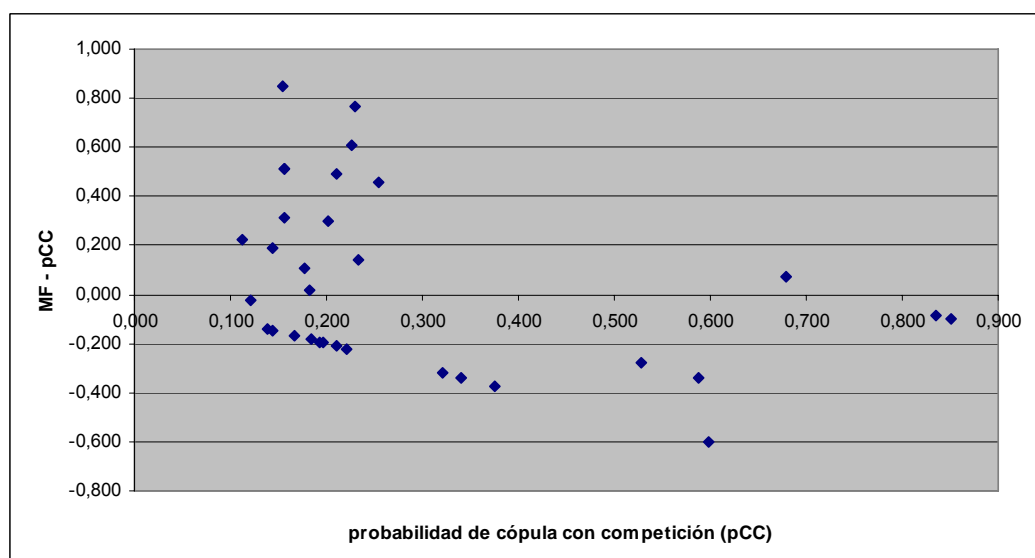
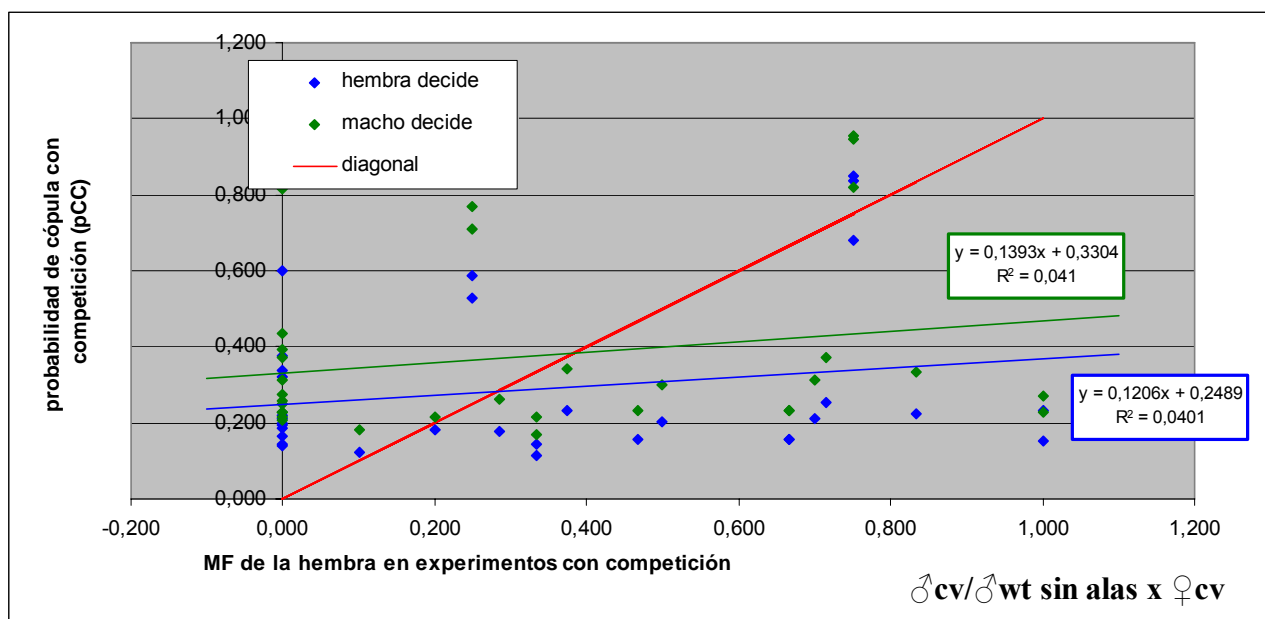


Figura 10.8: En la primera de las gráficas observamos las frecuencias de cópula observadas frente a los valores de p_{CC} masculina y femenina calculadas para cada una de las clases del experimento en que compiten un macho wt sin alas con uno cv por copular con una hembra cv. En la segunda gráfica presentamos la p_{CC} femenina frente a la diferencia MF- p_{CC} . Se puede observar que a los valores bajos de p_{CC} le corresponde un amplio rango de valores de la diferencia, es decir, que a las estimaciones bajas de p_{CC} les corresponde un abanico muy amplio de valores de MF observados. Esto puede dar cuenta de la falta de ajuste de los valores estimados a los observados en este tipo de experimento.

TABLAS

		PRUEBAS DE NORMALIDAD						HOMOCEDASTICIDAD ENTRE TANDAS			
		Kolmogrov-Smirnov			Shapiro-Wilk			Prueba de Levene			
		estadístico	gl	p	estadístico	gl	p	Estadístico	gl1	gl2	p
Experimentos en cámara de apareamiento sin competición	Machos	0,086	156	0,006	0,943	156	0,000	1,456	5	150	0,208
	Hembras	0,078	156	0,022	0,975	156	0,005	1,918	5	150	0,095
	Talla relativa del macho	0,077	156	0,026	0,991	156	0,414	2,903	5	150	0,016
Experimentos en cámara de apareamiento sin competición	Machos	0,175	120	0,000	0,776	120	0,000	4,178	3	116	0,008
	Hembras	0,079	120	0,061	0,981	120	0,087	1,044	3	116	0,376
	Talla relativa del macho	0,085	120	0,034	0,933	120	0,000	2,044	3	116	0,112
Experimentos en tubo con machos de diferente genotipo	Machos wt	0,106	282	0,000	0,918	282	0,000	12,314	4	277	0,000
	Machos cv	0,047	282	0,200	0,983	282	0,002	5,649	4	277	0,000
	Hembras	0,082	250	0,000	0,959	250	0,000	4,341	4	245	0,002
	Talla relativa del macho wt	0,068	250	0,007	0,981	250	0,002	4,143	4	245	0,003
	Talla relativa del macho cv	0,066	250	0,010	0,983	250	0,004	2,558	4	245	0,039
Experimentos en tubo con distintas densidades de machos	Padres	0,084	296	0,000	0,974	296	0,000	10,806	2	293	0,000
	Madres	0,103	129	0,002	0,938	129	0,000	8,878	2	126	0,000
	Hijos	0,176	532	0,000	0,897	532	0,000	152,205	2	529	0,000
	Hijas	0,136	546	0,000	0,910	546	0,000	167,861	2	543	0,000

Tabla 1.0: Normalidad y homocedasticidad de las variables referidas al tamaño de las moscas en los cuatro tipos de experimentos realizados en la primera parte.

	Talla macho			Talla hembra			Cociente macho/hembra			CL			MF	n
	Media	sd	SEM	Media	sd	SEM	Media	sd	SEM	Media	sd	SEM		
<i>TOTAL</i>	1,336	0,093	0,007	1,489	0,095	0,008	0,901	0,076	0,006	280,481	197,652	17,139	85,26%	156
<i>Tanda 1</i>	1,345	0,080	0,028	1,548	0,067	0,024	0,869	0,037	0,013	266,857	175,122	66,190	87,50%	8
<i>Tanda 2</i>	1,325	0,073	0,018	1,496	0,125	0,031	0,892	0,100	0,025	350,250	250,443	72,297	75,00%	16
<i>Tanda 3</i>	1,386	0,061	0,009	1,503	0,081	0,012	0,925	0,068	0,010	219,375	177,288	28,032	90,91%	44
<i>Tanda 4</i>	1,380	0,059	0,009	1,500	0,089	0,014	0,924	0,073	0,011	240,314	150,761	25,483	83,33%	42
<i>Tanda 5</i>	1,298	0,072	0,016	1,527	0,071	0,016	0,851	0,045	0,010	481,200	210,460	54,341	75,00%	20
<i>Tanda 6</i>	1,217	0,092	0,018	1,393	0,070	0,014	0,876	0,080	0,016	284,542	185,785	37,923	92,31%	26

Tabla 1.1. Valores medios para las distintas variables continuas (tallas de macho y hembra, talla relativa del macho, y tiempo hasta la cópula) y la frecuencia de cópula de los experimentos realizados en cámara de apareamiento sin competición. Se presentan estos valores para la totalidad de estos experimentos y calculados para cada una de las seis tandas.

	Talla macho	Talla hembra	Cociente	CL
χ^2	64,826	34,403	23,494	18,791
gl.	5	5	5	5
p	<0,001	<0,001	<0,001	0,002

Tabla 1.2. Comparación de las medias de las distintas variables continuas entre las tandas de los experimentos realizados en cámara de apareamiento sin competición. La comparación se realiza empleando la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis

	CORRELACIONES											
	talla hembra con talla macho			talla macho con tiempo			talla hembra con tiempo			cociente con tiempo		
	σ_s	p	n	σ_s	p	n	σ_s	p	n	σ_s	p	n
<i>TOTAL</i>	0,176	0,028	156	-0,151	0,082	133	0,011	0,900	133	-0,172	0,048	133
<i>Tanda 1</i>	0,476	0,233	8	-0,429	0,337	7	-0,214	0,645	7	-0,214	0,645	7
<i>Tanda 2</i>	-0,203	0,451	16	0,210	0,513	12	0,084	0,795	12	0,224	0,484	12
<i>Tanda 3</i>	-0,087	0,407	44	0,013	0,907	40	0,021	0,852	40	-0,010	0,926	40
<i>Tanda 4</i>	-0,168	0,288	42	-0,010	0,957	35	0,164	0,347	35	-0,249	0,150	35
<i>Tanda 5</i>	0,392	0,087	20	0,179	0,524	15	-0,036	0,899	15	0,164	0,558	15
<i>Tanda 6</i>	0,102	0,619	26	-0,175	0,414	24	0,163	0,445	24	-0,219	0,304	24

Tabla 1.3. Correlaciones entre las distintas variables continuas en los experimentos en cámara de cortejo sin competición. Se presentan los coeficientes de correlación no paramétricos de Spearman (σ_s) y su significación para la totalidad de estos experimentos y calculados para cada una de las seis tandas.

	Comparación talla de las hembras					Comparación de la talla de los machos					Comparación de la talla relativa de los machos				
	$\text{♂ no copula} / \text{♂ copula}$					$\text{♀ no copula} / \text{♀ copula}$					$\text{♂ no copula} / \text{♂ copula}$				
	U	no copulan	copulan	Z	p	U	no copulan	copulan	Z	p	U	no copulan	copulan	Z	p
TOTAL	1397	23	133	-0,662	0,508	1179	23	133	-1,752	0,080	1253	23	133	-1,382	0,167
Tanda 1	3	1	7	-0,218	1,000	3	1	7	-0,218	1,000	1	1	7	-1,091	0,500
Tanda 2	14	4	12	-1,213	0,262	17	4	12	-0,849	0,446	13	4	12	-1,334	0,212
Tanda 3	74	4	40	-0,245	0,829	75	4	40	-0,204	0,859	80	4	40	0,000	1,000
Tanda 4	111	7	35	-0,388	0,716	117	7	35	-0,186	0,869	115	7	35	-0,253	0,817
Tanda 5	30	5	15	-0,655	0,553	19	5	15	-1,615	0,119	22	5	15	-1,353	0,197
Tanda 6	24	2	24	0,000	1,000	12	2	24	-1,155	0,302	12	2	24	-1,155	0,302

Tabla 1.4: Comparación de las tallas de machos y hembras entre los animales que copularon y los que no. La comparación se realiza empleando la prueba no paramétrica de Mann-Whitney. Estas comparaciones se realizan para la totalidad de estos experimentos y para cada una de las seis tandas.

		TANDA 2 (n=16)			TANDA 3 (n=44)			TANDA 4 (n=42)			TANDA 5 (n=20)			TANDA 6 (n=26)		
		U	Z	p	U	Z	p	U	Z	p	U	Z	p	U	Z	p
Ha copulado 1/4	<i>Macho</i>				170	-0,312	0,769	165	-0,157	0,888						
	<i>Hembra</i>				142	-1,071	0,295	108	-1,788	0,076						
	<i>Cociente</i>				146	-0,962	0,348	108	-1,788	0,076						
Ha copulado 1/3	<i>Macho</i>				162	-1,374	0,169	182	-0,538	0,590				54	-1,213	0,241
	<i>Hembra</i>				214	-0,087	0,931	145	-1,509	0,131				60	-0,889	0,396
	<i>Cociente</i>				198	-0,483	0,629	137	-1,719	0,086				45	-1,698	0,095
Ha copulado 1/2	<i>Macho</i>	28	-0,420	0,721	220	-0,516	0,606	220	-0,013	0,990	43	-0,529	0,631	74	-0,514	0,631
	<i>Hembra</i>	22	-1,050	0,328	239	-0,070	0,944	213	-0,189	0,850	32	-1,361	0,190	61	-1,183	0,252
	<i>Cociente</i>	27	-0,525	0,645	240	-0,047	0,963	213	-0,189	0,850	46	-0,302	0,796	57	-1,389	0,176
Ha copulado 2/3	<i>Macho</i>				202	-0,384	0,701	186	-0,068	0,957				74	-0,135	0,916
	<i>Hembra</i>				215	-0,062	0,951	180	-0,231	0,830				42	-1,859	0,066
	<i>Cociente</i>				205	-0,309	0,757	182	-0,177	0,872				50	-1,428	0,164
Ha copulado 3/4	<i>Macho</i>				123	-1,586	0,117	146	-0,701	0,498						
	<i>Hembra</i>				164	-0,474	0,650	169	-0,043	0,978						
	<i>Cociente</i>				171	-0,285	0,789	163	-0,215	0,844						

Tabla 1.5. Comparación de las tallas de machos y hembras entre los animales que copularon y los que no en diferentes momentos a lo largo del experimento. Estos puntos de análisis los determina el que haya copulado un percentil dado del total de los experimentos. Estas comparaciones se realizan para la totalidad de estos experimentos y para cada una de las seis tandas.

Variables en el modelo	MODELO				VARIABLE					
	-2log likelihood	Likelihood Ratio Test	g.l.	p	variables	coeficiente	error estándar	wald	g.l.	p
<i>Modelo nulo</i>	130,489				intersección	1,755	0,226	60,386	1	<0,001
<i>talla ♂</i>	130,463	0,027	1	0,870	intersección	1,224	3,231	0,143	1	0,705
					talla ♂	0,398	2,416	0,027	1	0,869
<i>talla ♂, (talla ♂)²</i>	129,436	1,053	2	0,591	intersección	-57,301	65,429	0,767	1	0,381
					talla ♂	22,214	25,001	0,789	1	0,374
					talla ♂ ²	38,495	42,708	0,812	1	0,367
<i>talla ♀</i>	126,679	3,811	1	0,051	intersección	9,226	4,046	5,200	1	0,023
					talla ♀	-4,969	2,662	3,485	1	0,062
<i>talla ♀, (talla ♀)²</i>	126,661	3,829	2	0,147	intersección	2,840	47,449	0,004	1	0,952
					talla ♀	3,612	63,609	0,003	1	0,955
					talla ♀ ²	-2,872	21,279	0,018	1	0,893
<i>talla ♀, talla ♂</i>	126,313	4,177	2	0,124	intersección	7,614	4,752	2,568	1	0,109
					talla ♀	-5,297	2,716	3,805	1	0,051
					talla ♂	1,577	2,573	0,375	1	0,540
<i>talla ♀, talla ♂, talla ♀ x talla ♂</i>	122,618	7,871	3	0,049	intersección	147,026	78,051	3,548	1	0,060
					talla ♀	-99,036	52,179	3,602	1	0,058
					talla ♂	-103,212	58,152	3,150	1	0,076
					talla ♀ x talla ♂	70,432	38,890	3,280	1	0,070
<i>hora</i>	125,113	5,376	5	0,372	intersección	21,203	14210,285	0,000	1	0,999
					hora (5)			2,782	5	0,734
<i>tanda</i>	125,273	5,216	5	0,390	intersección	2,485	0,736	11,400	1	0,001
					tanda (5)			4,971	5	0,419
<i>cociente</i>	128,211	2,278	1	0,131	intersección	-2,309	2,714	0,724	1	0,395
					cociente	4,558	3,063	2,215	1	0,137

Tabla 1.6. Resumen de diferentes regresiones logísticas que ajustan a las frecuencias de cópula de experimentos sin competición realizados en cámara de cortejo. Se emplean todas las variables de una en una, la interacción entre las tallas y las tallas en segundo orden.

<div> <div>♂</div> <div>♀</div> </div>	1,2 mm	1,3 mm	1,4 mm	1,5 mm	1,6 mm	1,7 mm
1	1,000	0,995	0,891	0,235	0,011	0,000
1,1	0,999	0,990	0,886	0,373	0,043	0,003
1,2	0,997	0,980	0,882	0,535	0,151	0,027
1,3	0,987	0,958	0,877	0,691	0,410	0,178
1,4	0,945	0,916	0,873	0,812	0,732	0,632
1,5	0,801	0,837	0,868	0,893	0,914	0,932

Tabla 1.7. Estimación de la probabilidad de cópula de experimentos sin competición en cámara de cortejo. Se empleó el modelo que considera simultáneamente las tallas del macho y de la hembra. La estimación se calcula con tallas ficticias (en mm) del macho y la hembra.

Variables en el modelo	MODELO				VARIABLE					
	-2log likelihood	Likelihood Ratio Test	g.l.	p	variables	coeficiente	error estándar	wald	g.l.	P
<i>Modelo nulo</i>	216,262				intersección	0,000	0,160	0,000	1	1,000
<i>talla ♂</i>	215,204	1,05823	1	0,304	intersección	-2,403	2,358	1,038	1	0,308
					talla ♂	1,797	1,760	1,043	1	0,307
<i>talla ♂, (talla ♂)²</i>	215,177	1,08484	2	0,581	intersección	1,008	20,953	0,002	1	0,962
					talla ♂	-3,515	32,490	0,012	1	0,914
					talla ♂ ²	2,056	12,559	0,027	1	0,870
<i>talla ♀</i>	214,488	1,77398	1	0,183	intersección	3,375	2,559	1,740	1	0,187
					talla ♀	-2,267	1,715	1,748	1	0,186
<i>talla ♀, (talla ♀)²</i>	213,786	2,47633	2	0,290	intersección	30,515	32,741	0,869	1	0,351
					talla ♀	-39,315	44,552	0,779	1	0,378
					talla ♀ ²	12,590	15,118	0,694	1	0,405
<i>talla ♀, talla ♂</i>	212,601	3,66075	2	0,160	intersección	0,907	3,140	0,083	1	0,773
					talla ♀	-2,839	1,780	2,544	1	0,111
					talla ♂	2,483	1,828	1,846	1	0,174
<i>talla ♀, talla ♂, talla ♀ x talla ♂</i>	208,917	7,34529	3	0,062	intersección	82,384	44,564	3,418	1	0,065
					talla ♀	-58,788	30,555	3,702	1	0,054
					talla ♂	-58,891	33,408	3,107	1	0,078
					♀ x ♂	42,096	22,867	3,389	1	0,066
<i>hora</i>	204,441	11,8209	5	0,037	intersección	1,099	0,816	1,810	1	0,178
					hora (5)			10,423	5	0,064
<i>tanda</i>	195,283	20,9793	5	0,001	intersección	0,310	0,397	0,610	1	0,435
					tanda (5)			14,290	5	0,014
<i>cociente</i>	212,828	3,43414	1	0,064	intersección	-3,578	1,970	3,298	1	0,069
					cociente	3,972	2,180	3,320	1	0,068
<i>talla ♀, talla ♂, hora, talla ♀ x talla ♂</i>	198,03	18,2386	8	0,020	intersección	83,020	46,157	3,235	1	0,072
					talla ♀	-58,750	31,609	3,455	1	0,063
					talla ♂	-59,240	34,574	2,936	1	0,087
					hora (5)			9,498	5	0,091
					♀ x ♂	42,664	23,683	3,245	1	0,072

Variables en el modelo	MODELO				VARIABLE					
	-2log likelihood	Likelihood Ratio Test	g.l.	p	variables	coeficiente	error estándar	wald	g.l.	P
<i>cociente, hora</i>	201,733	14,5292	6	0,024	intersección	-4,621	2,166	4,552	1	0,033
					cociente	3,740	2,300	2,643	1	0,104
					hora (5)			9,776	5	0,082
<i>hora, tanda</i>	185,548	30,7143	10	0.001	intersección	0,936	0,854	1,201	1	0,273
					hora (5)			8,872	5	0,114
					tanda (5)			13,633	5	0,018
<i>talla ♀, talla ♂, tanda (talla ♂)², talla ♀ x talla ♂,</i>	190,807	25,4545	9	0,003	intersección	60,681	53,341	1,294	1	0,255
					talla ♀	-62,014	36,033	2,962	1	0,085
					talla ♂	-19,193	49,909	0,148	1	0,701
					tanda (5)			12,861	5	0,025
					♀ x ♂	45,003	26,723	2,836	1	0,092
					talla ♂ ²	-18,056	15,992	1,275	1	0,259

Tabla 1.8. Resumen de diferentes regresiones logísticas que ajustan a las frecuencias de cópula de experimentos sin competición realizados en cámara de cortejo en el momento en que se había producido la cópula en el 50% de los experimentos. Se generaron modelos con todas las variables de una en una, algunas parejas de variables, las tallas en segundo orden y la interacción entre las tallas. El modelo final incluye las tallas de macho y hembra, la talla del macho en segundo orden, la interacción de las tallas de macho y hembra y la tanda.

♂ \ ♀	1,2 mm	1,3 mm	1,4 mm	1,5 mm	1,6 mm	1,7 mm
1 mm	0,948	0,778	0,400	0,113	0,024	0,005
1,1 mm	0,896	0,716	0,424	0,177	0,059	0,018
1,2 mm	0,802	0,644	0,448	0,266	0,140	0,068
1,3 mm	0,656	0,566	0,472	0,380	0,296	0,224
1,4 mm	0,472	0,484	0,497	0,509	0,521	0,533
1,5 mm	0,296	0,403	0,521	0,636	0,738	0,819

Tabla 1.9. Estimación de la probabilidad de cópula de experimentos sin competición en cámara de cortejo concluidos a los 300 segundos aproximadamente. En este tiempo se ha producido la cópula en el 50% de los experimentos. Se empleó el modelo que considera simultáneamente las tallas del macho y de la hembra, la talla del macho en segundo orden, la interacción entre las tallas y la tanda. La estimación se calcula con tallas ficticias (en mm) del macho y la hembra.

MODELO	VARIABLES DE TALLA CONTINUAS						VARIABLES DE TALLA EN TRES CATEGORÍAS					
	R ²	variables	suma de cuadrados	g.l.	F	p	R ²	variables por categorías	suma de cuadrados	g.l.	F	p
<i>talla</i> ♀, <i>talla</i> ♂, <i>talla</i> ♀ x <i>talla</i> ♂	0,015	intersección	20284,468	1	0,527	0,469	0,004	intersección	9774700,469	1	249,158	<0,001
		talla ♂	19723,426	1	0,512	0,475		talla ♂	108911,865	2	1,388	0,253
		talla ♀	31675,113	1	0,823	0,366		talla ♀	23333,562	2	0,297	0,743
		talla ♀ x talla ♂	26703,126	1	0,694	0,406		talla ♀ x talla ♂	132410,527	4	0,844	0,500
		error	4966084,199	129				error	4864637,121	124		
<i>talla</i> ♀, <i>talla</i> ♂, <i>hora</i>	0,048	intersección	116076,659	1	3,121	0,080	0,041	intersección	7289181,408	1	194,598	<0,001
		talla ♂	118238,720	1	3,179	0,077		talla ♂	158811,961	2	2,120	0,124
		talla ♀	10983,407	1	0,295	0,588		talla ♀	3355,036	2	0,045	0,956
		hora	343651,252	5	1,848	0,108		hora	389756,011	5	2,081	0,072
		error	4649136,072	125				error	4607291,637	123		
<i>talla</i> ♀, <i>talla</i> ♂, <i>hora</i> , <i>talla</i> ♀ x <i>talla</i> ♂	0,044	intersección	10055,443	1	0,269	0,605	0,048	intersección	6828041,592	1	183,613	<0,001
		talla ♂	11156,568	1	0,299	0,586		talla ♂	127548,901	2	1,715	0,184
		talla ♀	17406,118	1	0,466	0,496		talla ♀	17801,920	2	0,239	0,788
		talla ♀ x talla ♂	15765,727	1	0,422	0,517		talla ♀ x talla ♂	182033,902	4	1,224	0,304
		hora	332713,853	5	1,781	0,122		hora	439379,385	5	2,363	0,044
		error	4633370,345	124				error	4425257,735	119		
<i>talla</i> ♀, <i>talla</i> ♂, <i>hora</i> , <i>tanda</i>	0,141	intersección	4556,170	1	0,136	0,713	0,135	intersección	5723987,780	1	169,433	<0,001
		talla ♂	696,399	1	0,021	0,886		talla ♂	44846,087	2	0,664	0,517
		talla ♀	13435,611	1	0,400	0,528		talla ♀	6583,556	2	0,097	0,907
		hora	229772,752	5	1,369	0,241		hora	241605,991	5	1,430	0,218
		tanda	621330,993	5	3,702	0,004		tanda	620866,573	5	3,676	0,004
		error	4027805,079	120				error	3986425,064	118		

MODELO	VARIABLES DE TALLA CONTINUAS						VARIABLES DE TALLA EN TRES CATEGORÍAS					
	R ²	variables	suma de cuadrados	g.l.	F	p	R ²	variables por categorías	suma de cuadrados	g.l.	F	p
<i>talla ♀, talla ♂, hora, tanda, talla ♀ x talla ♂</i>	0,135	intersección	5541,006	1	0,164	0,686	0,127	intersección	5239799,500	1	153,610	<0,001
		talla ♂	6224,168	1	0,184	0,669		talla ♂	41981,782	2	0,615	0,542
		talla ♀	7716,966	1	0,228	0,634		talla ♀	5144,142	2	0,075	0,927
		talla ♀ x talla ♂	6531,644	1	0,193	0,661		talla ♀ x talla ♂	97766,348	4	0,717	0,582
		hora	220053,863	5	1,302	0,268		hora	252711,539	5	1,482	0,201
		tanda	612096,910	5	3,623	0,004		tanda	536599,019	5	3,146	0,011
		error	4021273,435	119				error	3888658,716	114		
<i>cociente, hora</i>	0,049	intersección	299801,809	1	8,072	0,005	0,049	intersección	7400832,672	1	199,122	<0,001
		cociente	87413,106	1	2,353	0,128		cociente	121514,489	2	1,635	0,199
		hora	323919,270	5	1,744	0,129		hora	298444,253	5	1,606	0,163
		error	4680018,279	126				error	4645916,896	125		
<i>cociente, hora, tanda</i>	0,147	intersección	132771,417	1	3,985	0,048	0,148	intersección	5485722,224	1	164,759	<0,001
		cociente	10748,973	1	0,323	0,571		cociente	46377,374	2	0,696	0,500
		hora	229870,832	5	1,380	0,237		hora	230113,893	5	1,382	0,236
		tanda	648941,416	5	3,896	0,003		tanda	650468,433	5	3,907	0,003
		error	4031076,863	121				error	3995448,463	120		

Tabla 1.10: Modelos de regresión que pretenden ajustarse a los valores de CL de los experimentos sin competición en cámara de apareamiento. Se muestran los modelos generados con el procedimiento GLM que consideran diferentes variables e interacciones entre ellas. Se presenta el R²_{corregido} de cada una de estas regresiones además de la significación de las variables en el modelo

	Talla macho			Talla hembra			Cociente macho/hembra			CL			n	
	Media	sd	SEM	Media	sd	SEM	Media	Sd	SEM	Media	sd	SEM	♂	♀
<i>TOTAL</i>	1,353	0,072	0,007	1,517	0,070	1,517	0,893	0,062	0,006	248,767	209,151	27,001	120	60
<i>Tanda 1</i>	1,300	0,105	0,033	1,486	0,078	1,486	0,877	0,087	0,028	322,200	236,235	105,648	10	5
<i>Tanda 2</i>	1,337	0,080	0,011	1,514	0,068	1,514	0,885	0,070	0,009	168,679	166,255	31,419	56	28
<i>Tanda 3</i>	1,376	0,045	0,008	1,498	0,075	1,498	0,920	0,050	0,010	277,714	225,886	60,371	28	14
<i>Tanda 4</i>	1,382	0,032	0,006	1,557	0,055	1,557	0,888	0,036	0,007	361,846	216,703	60,103	26	13

Tabla 2.1. Valores medios para las distintas variables continuas (tallas de macho y hembra, talla relativa del macho, y tiempo hasta la cópula) y la frecuencia de cópula de los experimentos realizados en cámara de apareamiento con competición (con dos machos). Se presentan estos valores para la totalidad de estos experimentos y calculados para cada una de las cuatro tandas

	Talla macho	Talla hembra	Cociente	CL
χ^2	16,686	5,847	7,430	13,313
<i>g.l.</i>	3	3	3	3
<i>p</i>	0,001	0,119	0,059	0,004
<i>n</i>	120	60	120	60

Tabla 2.2: Comparación de las medias de las distintas variables continuas entre las tandas de los experimentos realizados en cámara de apareamiento con competición. La comparación se realiza empleando la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis

		Experimento	Tanda 1	Tanda 2	Tanda 3	Tanda 4	
		n	120	10	56	28	26
Tallas machos	no copularon	Talla (mm)	1,347	1,255	1,330	1,383	1,380
		sd	0,082	0,085	0,095	0,040	0,037
	copularon	Talla (mm)	1,358	1,345	1,344	1,369	1,384
		sd	0,060	0,112	0,062	0,050	0,029
Talla relativa macho	copularon	Talla	0,889	0,847	0,880	0,925	0,887
		Sd	0,064	0,075	0,076	0,042	0,032
	no copularon	Talla	0,897	0,907	0,890	0,916	0,890
		sd	0,061	0,096	0,064	0,059	0,040
Diferencia entre la talla de los machos	copula – no copula		0,012	0,090	0,014	-0,014	0,004
	sd		0,100	0,161	0,115	0,072	0,046
	± IC 95%		0,026	0,200	0,045	0,041	0,028
Prueba binomial	Frecuencia cópula grande		0,533	0,800	0,464	0,429	0,462
	Frecuencia cópula pequeño		0,467	0,200	0,536	0,571	0,538
	p		0,699	0,375	0,851	0,791	1,000
Prueba t	t		0,906	1,248	0,657	-0,713	0,276
	g.l.		59	4	27	13	12
	p		0,369	0,280	0,516	0,489	0,787
Test de Wilcoxon	Z		-0,121	-1,214	0,000	-0,659	-0,175
	p		0,903	0,225	1,000	0,510	0,861

Tabla 2.3 : Valores medios de las tallas y las tallas relativas entre los machos que copularon y los que no del total de los experimentos realizados y para cada tanda. Además se comparan estas tallas medias entre ambos grupos (machos que copulan y no) mediante diferentes procedimientos estadísticos: se calcula el intervalo de confianza para la media de la diferencia, la probabilidad de que el macho mayor copulase en ese número de experimentos dependiendo solamente del azar (binomial) y los test para muestras apareadas paramétrico y no paramétrico . Estas comparaciones se realizan para la totalidad de estos experimentos y para cada una de las cuatro tandas.



			Experimento	Cuartil 1	Cuartil 2	Cuartil 3	Cuartil 4
Tiempo máximo			900	94	180	290	893
n			120	28	32	32	28
Tallas machos	<i>no copularon</i>	<i>Talla (mm)</i>	1,347	1,340	1,350	1,330	1,368
		<i>sd</i>	0,082	0,088	0,052	0,115	0,056
	<i>copularon</i>	<i>Talla (mm)</i>	1,358	1,361	1,330	1,367	1,378
		<i>sd</i>	0,060	0,075	0,073	0,046	0,029
Talla relativa macho	<i>copularon</i>	<i>Talla</i>	0,889	0,905	0,895	0,855	0,906
		<i>Sd</i>	0,064	0,077	0,036	0,081	0,041
	<i>no copularon</i>	<i>Talla</i>	0,897	0,921	0,882	0,878	0,914
		<i>sd</i>	0,061	0,080	0,051	0,047	0,056
Diferencia entre la talla de los machos	<i>copula – no copula</i>		0,012	0,021	-0,020	0,037	0,009
	<i>sd</i>		0,100	0,119	0,076	0,119	0,080
	$\pm IC\ 95\%$		0,026	0,069	0,041	0,064	0,046
Prueba binomial	<i>Frecuencia cópula grande</i>		0,533	0,643	0,375	0,563	0,571
	<i>Frecuencia cópula pequeño</i>		0,467	0,357	0,625	0,438	0,429
	<i>p</i>		0,699	0,424	0,454	0,804	0,791
Prueba t	<i>t</i>		0,906	0,669	-1,043	1,245	0,435
	<i>g.l.</i>		59	13	15	15	13
	<i>p</i>		0,369	0,515	0,314	0,232	0,671
Test de Wilcoxon	<i>Z</i>		-0,121	-0,910	-0,957	-0,569	-0,031
	<i>p</i>		0,903	0,363	0,339	0,569	0,975

Tabla 2.4. Valores medios de las tallas y las tallas relativas entre los machos que copularon y los que no del total de los experimentos realizados y dentro de cada 25% de experimentos en que se va produciendo sucesivamente la cópula (cuarteles). Además se comparan estas tallas medias entre ambos grupos (machos que copulan y no) mediante diferentes procedimientos estadísticos: se calcula el intervalo de confianza para la media de la diferencia, la probabilidad de que el macho mayor copulase en ese número de experimentos debido solamente al azar (binomial) y los test para muestras apareadas paramétrico y no paramétrico . Estas comparaciones se realizan para la totalidad de estos experimentos y para cada una de los cuartiles

Variables en el modelo	MODELO				VARIABLES					
	-2log likelihood	Likelihood Ratio Test	g.l.	p		coeficiente	error estándar	wald	g.l.	p
Modelo nulo	166,355									
talla ♂	165,533	0,822	1	0,365	constante	-3,196	3,595	0,790	1	0,374
					talla ♂	2,362	2,652	0,793	1	0,373
diferencia tallas ♂s	164,683	1,673	1	0,196	constante	0,000	0,184	0,000	1	1,000
					diferencia	2,413	1,910	1,595	1	0,207
cociente (talla ♂/ talla ♀)	165,833	0,523	1	0,470	constante	-1,910	2,667	0,513	1	0,474
					cociente	2,138	2,977	0,515	1	0,473
cociente, cociente ²	165,826	0,530	2	0,767	constante	-0,456	17,361	0,001	1	0,979
					cociente	-1,255	40,158	0,001	1	0,975
					cociente2	1,966	23,221	0,007	1	0,933
diferencia de cocientes	164,465	1,890	1	0,169	constante	0,000	0,184	0,000	1	1,000
					diferencia	3,915	2,920	1,797	1	0,180
talla ♀, talla ♂, talla ♀ x talla ♂	163,710	2,645	3	0,450	constante	-115,075	85,761	1,800	1	0,180
					talla ♂	85,048	63,233	1,809	1	0,179
					talla ♀	72,846	55,673	1,712	1	0,191
					talla ♀x talla ♂	-53,837	41,048	1,720	1	0,190
diferencia tallas, talla ♀,diferenca x talla ♀	161,620	4,736	3	0,192	constante	0,000	4,181	0,000	1	1,000
					diferencia	77,082	45,457	2,875	1	0,090
					talla ♀	0,000	2,747	0,000	1	1,000
					diferencia x talla ♀	-48,662	29,477	2,725	1	0,099
talla ♂, hora, talla ♂x hora	165,505	0,851	7	0,997	constante	-3,271	3,630	0,812	1	0,368
					talla ♂	2,444	2,696	0,822	1	0,365
					hora			0,012	3	1,000
					hora x talla ♂			0,012	3	1,000
diferencia de tallas, hora, diferencia x hora	154,226	12,129	7	0,096	constante	0,000	0,381	0,000	1	1,000
					diferencia	2,420	3,549	0,465	1	0,495
					hora			0,000	3	1,000
					diferencia x hora			7,978	3	0,046

Variables en el modelo	MODELO				VARIABLES					
	-2log likelihood	Likelihood Ratio Test	g.l.	p	coeficiente		error estándar	wald	g.l.	p
talla ♂,tanda, talla ♂x tanda	162,919	3,436	7	0,842	constante	-4,841	17,189	0,079	1	0,778
					talla ♂	3,503	12,435	0,079	1	0,778
					tanda			2,149	3	0,542
					talla ♂ x tanda			2,195	3	0,533
diferencia de tallas, tanda, diferencia x tanda	161,058	5,297	7	0,624	constante	0,000	0,393	0,000	1	1,000
					diferencia	3,612	8,948	0,163	1	0,686
					tanda			0,000	3	1,000
					diferencia x tanda			3,118	3	0,374
diferencia, talla ♀, hora, diferencia x talla ♀, diferencia x hora	146,966	19,389	9	0,022	constante	0,000	4,455	0,000	1	1,000
					diferencia	142,292	58,900	5,836	1	0,016
					talla ♀	0,000	2,906	0,000	1	1,000
					hora			0,000	3	1,000
					diferencia x talla ♀	-92,492	38,413	5,798	1	0,016
					diferencia x hora			10,970	3	0,012
diferencia de cocientes, hora, diferencia de cocientes x hora	154,240	12,115	7	0,097	constante	0,000	0,382	0,000	1	1,000
					diferencia cocientes	3,794	5,279	0,517	1	0,472
					hora			0,000	3	1,000
					diferencia coc x hora			7,885	3	0,048

Tabla 2.5: Resumen de diferentes regresiones logísticas que ajustan a las frecuencias de cópula de experimentos con competición realizados en cámara de cortejo. Las variables consideradas son la talla de la hembra, la talla del macho que finalmente copuló, la talla relativa de este macho con respecto a la hembra (cociente), la diferencia de talla de este macho con su competidor (diferencia), la diferencia de talla relativa entre este macho y su competidor (diferencia de cocientes), la tanda y la hora. Se generaron modelos que consideran diferentes variables e interacciones entre ellas. El modelo final incluye la talla de la hembra, la diferencia de tallas entre los competidores, la interacción entre estas dos variables, la hora y la interacción de la diferencia con la hora.

ZT6 dif  	1,2 mm	1,3 mm	1,4 mm	1,5 mm	1,6 mm	1,7 mm
0,15 mm	0,991	0,965	0,872	0,630	0,299	0,096
0,1 mm	0,958	0,901	0,783	0,588	0,361	0,183
0,05 mm	0,827	0,751	0,655	0,544	0,429	0,321
0,02 mm	0,652	0,609	0,564	0,518	0,472	0,426
0 mm	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500
-0,02 mm	0,348	0,391	0,436	0,482	0,528	0,574
-0,05 mm	0,173	0,249	0,345	0,456	0,571	0,679
-0,1 mm	0,042	0,099	0,217	0,412	0,639	0,817
-0,15 mm	0,009	0,035	0,128	0,370	0,701	0,904



ZT9 dif  	1,2 mm	1,3 mm	1,4 mm	1,5 mm	1,6 mm	1,7 mm
0,15 mm	0,773	0,460	0,175	0,050	0,013	0,003
0,1 mm	0,694	0,473	0,262	0,124	0,053	0,022
0,05 mm	0,601	0,486	0,374	0,273	0,191	0,130
0,02 mm	0,541	0,495	0,449	0,403	0,360	0,318
0 mm	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500
-0,02 mm	0,459	0,505	0,551	0,597	0,640	0,682
-0,05 mm	0,399	0,514	0,626	0,727	0,809	0,870
-0,1 mm	0,306	0,527	0,738	0,876	0,947	0,978
-0,15 mm	0,227	0,540	0,825	0,950	0,987	0,997

Tabla 2.6. . Estimación de la probabilidad de cópula de experimentos con competición en cámara de cortejo. Se empleó el modelo que considera simultáneamente las diferencia de tallas de los machos, la talla de la hembra, la interacción entre estas variables, la hora y la interacción de la hora con la diferencia. La estimación se calcula con tallas ficticias (en mm) de machos y hembra y para dos horas del día (ZT6 y ZT9).

Tiempo	n		Talla macho			Talla hembra			Cociente macho/hembra			% Cópulas
	Han copulado	No han copulado	U	Z	p	U	Z	p	U	Z	p	
94	46	14	270	-0,909	0,3634	205	-2,045	0,041	181	-2,464	0,014	23,33%
148	40	20	385	-0,235	0,8140	293	-1,678	0,093	295	-1,647	0,099	33,33%
180	30	30	372	-1,153	0,2488	299	-2,232	0,026	377	-1,079	0,281	50%
261	20	40	327	-1,145	0,2523	381	-0,298	0,766	385	-0,235	0,814	66,66%
290	14	46	239,5	-1,442	0,1493	305	-0,297	0,7664	273	-0,856	0,392	76,66%

Tabla 2.7. Diferencias la talla de la hembra, en la talla del macho que finalmente copula o en la talla relativa de este macho entre los grupos que configuran los experimentos en que se ha copulado y no a lo largo del experimento. En concreto se realizaron estos análisis en los momentos en que había copulado en el 25, 33, 50, 66 y 75% de los experimentos.

		Ha copulado el 25%			Ha copulado el 33.3%			Ha copulado el 50%			Ha copulado el 66.6%			Ha copulado el 75%			n
		Tallas			Tallas			Tallas			Tallas			Tallas			
		♂	♀	♂/♀	♂	♀	♂/♀	♂	♀	♂/♀	♂	♀	♂/♀	♂	♀	♂/♀	
Tanda 2	U	61	39	34	53,5	50	41	72,5	58	55	80,5	44	52	70,5	49	54	28
	Z	-0,663	-1,830	-2,096	-1,750	-1,918	-2,349	-1,172	-1,838	-1,976	-0,246	-2,041	-1,648	-0,159	-1,300	-1,035	
	P	0,533	0,071	0,036	0,080	0,057	0,018	0,246	0,069	0,050	0,809	0,042	0,105	0,876	0,208	0,321	
Tanda 3	U				16,5	17	14				20,5	14	19				14
	Z				-0,496	-0,424	-0,849				-0,267	-1,133	-0,467				
	P				0,635	0,733	0,454				0,797	0,298	0,699				
Tanda 4	U				14	18	17				17	19	18				13
	Z				-0,617	0,000	-0,154				-0,439	-0,146	-0,293				
	p				0,604	1,000	0,940				0,724	0,943	0,833				

Tabla 2.8 Diferencias la talla de la hembra, en la talla del macho que finalmente copula o en la talla relativa de este macho entre los grupos que configuran los experimentos en que se ha copulado y no a lo largo del experimento dentro de cada tanda. En concreto se realizaron estos análisis en los momentos en que había copulado en el 25, 33, 50, 66 y 75% de los experimentos. Sin embargo no se realiza el análisis en los cinco puntos para cada tanda, sino solamente cuando uno de los grupos (copuló o no copuló) contiene al menos cuatro experimentos.

	CORRELACIONES										
	n	Talla ♂ con CL		Talla ♀ con CL		♂/♀ con CL		CL con (♂-♂)		Tiempo con (♂-♂)/♀	
		σ _S	p	σ _S	p	σ _S	p	σ _S	p	σ _S	p
<i>TOTAL</i>	60	0,127	0,332	0,175	0,180	-0,108	0,412	-0,024	0,855	-0,025	0,852
<i>Tanda 1</i>	5	0,800	0,104	-0,100	0,873	0,300	0,624	0,600	0,285	0,300	0,624
<i>Tanda 2</i>	28	-0,106	0,593	0,351	0,067	-0,355	0,063	0,021	0,914	0,021	0,914
<i>Tanda 3</i>	14	0,015	0,958	-0,169	0,563	0,046	0,876	-0,143	0,626	-0,143	0,626
<i>Tanda 4</i>	13	-0,082	0,789	0,093	0,762	-0,176	0,566	-0,346	0,247	-0,346	0,247

Correlación parcial	gl	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
	57	0,117	0,378	0,004	0,978	0,080	0,547	0,050	0,708	0,056	0,673

Tabla 2.9. Correlaciones entre las distintas variables referidas a la talla (talla del macho que copula, talla de la hembra, talla relativa del macho que copula, diferencia de tallas entre los machos y diferencia relativa de la talla de los machos) y el tiempo hasta la cópula (CL) en los experimentos en cámara de cortejo con competición. Se presentan los coeficientes de correlación no paramétricos de Spearman (σ_s) y su significación para la totalidad de estos experimentos y calculados para cada una de las cuatro tandas. También se presenta el coeficiente de correlación cuando se realiza la correlación controlando el valor de la variable tanda.

	CORRELACIONES											
	n	Tiempo máximo	Talla ♂-tiempo		Talla ♀-tiempo		♂/♀-tiempo		Tiempo-(♂-♂)		Tiempo-(♂-♂)/♀	
			σ _s	p	σ _s	p	σ _s	p	σ _s	p	σ _s	p
<i>TOTAL</i>	60		0,127	0,332	0,175	0,180	-0,108	0,412	-0,024	0,855	-0,025	0,852
<i>Primer tercil</i>	20	148 s	-0,087	0,717	0,266	0,256	-0,421	0,064	-0,169	0,477	-0,182	0,442
<i>Segundo tercil</i>	20	261 s	0,437	0,054	0,370	0,109	0,066	0,781	0,296	0,205	0,290	0,215
<i>Tercer tercil</i>	20	893 s	0,199	0,401	-0,227	0,335	0,273	0,244	0,022	0,926	0,018	0,940

Tabla 2.10: Correlaciones entre las distintas variables referidas a la talla (talla del macho que copula, talla de la hembra, talla relativa del macho que copula, diferencia de tallas entre los machos y diferencia relativa de la talla de los machos) y el tiempo hasta la cópula (CL) en los experimentos en cámara de cortejo con competición. Se presentan los coeficientes de correlación no paramétricos de Spearman (σ_s) y su significación para la totalidad de estos experimentos y calculados dentro de cada tercil de experimentos que copulan sucesivamente (experimentos donde se produjo la cópula rápidamente, en los que se tardó un tiempo medio o en los que la cópula tardó más tiempo en producirse).

MODELO BASE	VARIABLES AÑADIDAS	R^2 corregido		
		Tallas como continuas	Tallas en bloques	Eliminando la segunda tanda
Talla macho, talla hembra	hora	0,020	-0,008	-0,300
	tanda	0,079	0,056	
	hora, tanda	0,114	0,098	-0,066
	hora, tanda, talla macho x talla hembra	0,124	0,103	
Talla relativa del macho	hora	0,012	-0,007	0,050
	tanda	0,090	0,101	
	hora, tanda	0,129	0,110	-0,017
Diferencia entre las tallas relativas de los machos	hora	0,004	-0,007	-0,029
	tanda	0,087	0,100	
	hora, tanda	0,123	0,125	-0,072
	hora, tanda, diferencia relativa x hora	0,158		
	hora, tanda, diferencia relativa x tanda	0,137		
	hora, tanda, hora x tanda	0,095		
Diferencia entre los machos, talla hembra	hora	0,004	0,001	-0,066
	tanda	0,087	0,101	
	hora, tanda	0,107	0,096	-0,086
	diferencia x talla hembra	-0,017	-0,036	
	hora, tanda, talla hembra x diferencia	0,115		
	hora, tanda, hora x diferencia	0,130		
	hora, tanda, talla hembra x hora	0,224		
	hora, tanda, hora x tanda	0,077		
	hora, tanda, talla hembra x tanda	0,129		
	hora, tanda, diferencia x tanda	0,116		

Tabla 2.11: Resumen de diferentes regresiones que pretenden ajustar a los tiempos hasta la cópula de los experimentos con competición realizados en cámara de apareamiento. Las regresiones se generan mediante el proceso denominado GLM e incluyen siempre unas u otras variables referidas a la talla (talla de macho y hembra, talla relativa del macho, talla de la hembra y diferencia de talla de los machos o diferencia de la talla relativa de los machos) y, además, distintas variables (hora, tanda) e interacciones. Se presenta el R^2 corregido para estos modelos, teniendo en cuenta además que podemos emplear las variables tallas como covariables o como cofactor si las convertimos en una variable categórica. Además se realizan muchos de estos análisis cuando no se consideran los experimentos realizados en la segunda tanda, por presentar ésta CL significativamente mayores.

MODELO	variables	TALLAS CONTINUAS				DIFERENCIA EN 3 BLOQUES				Y SIN SEGUNDA TANDA				Y SIN VARIABLE TANDA			
		R ² corregido	suma cuadrados	df	p	R ² corregido	suma cuadrados	df	p	R ² corregido	suma cuadrados	df	p	R ² corregido	Suma cuadrados	df	p
diferencia, talla ♀, hora, tanda, hora x diferencia, hora x talla ♀	Intersección	0,238	5434,416	1	0,688	0,241	162,107	1	0,945	0,323	79915,573	1	0,140	0,330	46084,747	1	0,250
	talla hembra		23316,926	1	0,407		5283,850	1	0,692		50848,431	1	0,233		20353,515	1	0,439
	diferencia		8631,716	1	0,613		99683,418	2	0,235		73543,418	2	0,353		75281,040	2	0,338
	hora		307179,785	3	0,037		157817,907	3	0,208		108375,121	3	0,380		96714,432	3	0,420
	tanda		283317,231	3	0,049		300961,093	3	0,040		59933,482	2	0,423				
	hora x talla ♀		326099,793	3	0,030		173519,290	3	0,173		112220,703	3	0,366		104722,947	3	0,386
	hora x diferencia		129638,273	3	0,287		234550,638	6	0,337		331548,313	6	0,196		357446,039	6	0,154
	Error		1499985,678	45			1361220,037	41			458092,299	14			518025,780	16	
diferencia, talla ♀, hora, tanda, hora x talla ♀, diferencia x talla ♀	Intersección	0,245	11341,427	1	0,561	0,216	7501,355	1	0,642	0,269	42921,185	1	0,285	0,210	6946,629	1	0,674
	talla hembra		35668,494	1	0,304		27762,552	1	0,373		21979,865	1	0,441		78,176	1	0,964
	diferencia		73994,544	1	0,141		51367,609	2	0,479		164913,746	2	0,126		118280,691	2	0,237
	hora		364763,360	3	0,018		258174,638	3	0,071		248755,715	3	0,107		246706,459	3	0,125
	tanda		440616,429	3	0,008		441800,074	3	0,010		126829,521	2	0,195				
	hora x talla ♀		383423,130	3	0,015		273764,236	3	0,059		250520,034	3	0,105		253270,868	3	0,118
	talla ♀ x diferencia		77479,190	1	0,132		52190,004	2	0,473		153491,845	2	0,143		112493,532	2	0,253
	Error		1552144,762	47			1543580,671	45			636148,767	18			762978,287	20	
diferencia, talla ♀, hora, tanda, hora x diferencia, diferencia x talla ♀	Intersección	0,124	1138,736	1	0,864	0,218	251,383	1	0,932	0,386	45652,703	1	0,234	0,387	11136,621	1	0,548
	talla hembra		2416,734	1	0,803		4568,095	1	0,717		27926,212	1	0,347		2176,174	1	0,790
	diferencia		24558,165	1	0,427		98274,730	2	0,249		129479,015	2	0,147		116089,123	2	0,171
	hora		271781,877	3	0,083		294817,773	3	0,048		144541,708	3	0,226		148435,322	3	0,211
	tanda		251761,389	3	0,102		234157,319	3	0,093		58639,446	2	0,395				
	hora x diferencia		134421,248	3	0,332		379924,040	6	0,112		441936,432	6	0,072		512877,340	6	0,040
	talla ♀ x diferencia		24938,828	1	0,424		97318,460	2	0,253		125580,632	2	0,155		119376,913	2	0,164
	Error		1801146,644	47			1437420,867	42			444732,369	15			503371,814	17	

Tabla 2.12: Efecto de agregar distintas parejas de interacciones (hora x diferencia, hora x talla de la hembra o diferencia x talla de la hembra) al modelo que pretende ajustarse a los CL de experimentos con competición realizados en cámara de cortejos y que emplea como variables la diferencia, la talla de la hembra, la hora y la tanda”. Se presenta distintos modelos, teniendo en cuenta además que podemos emplear las variable diferencia como covariable o como cofactor si la convertimos en una variable categórica. Además se realizan los mismos análisis cuando no se consideran los experimentos realizados en la segunda tanda, por presentar ésta CL significativamente mayores. Y, en ese caso, probamos a descartar la variable “tanda”.

	grande			pequeño		
	requisito	talla	n	requisito	talla	n
Machos	mayores que	1,386	55	menores que	1,332	65
Parejas de machos	ambos mayores que	1,334	27	ambos menores que	1,385	16
Machos (relativa)	mayores que	0,921	54	menores que	0,869	52
Parejas de machos (relativa)	ambos mayores que	0,870	22	ambos menores que	0,921	22
Hembras	mayores que	1,544	49	menores que	1,463	57
			23			15

Tabla 3.1. Límites de la talla para considerar a las moscas grandes o pequeñas en el análisis de supervivencia donde se analizan los experimentos con y sin competición realizados en cámara de apareamiento. Las hembras grandes o pequeñas presentan dos n diferentes, según nos refiramos al número de hembras grandes o pequeñas que participan en experimentos con y sin competición.

MACHOS

	♂ pequeño sin competición	♂ grande sin competición	♂s pequeños con competición	♂s grandes con competición	
♂ pequeño sin competición		4,838 1 0,028	11,905 1 0,001	3,862 1 0,049	<i>Estadístico de Wilcoxon</i> g.l. p
♂ grande sin competición	4,838 1 0,028		4,151 1 0,042	0,082 1 0,775	<i>Estadístico de Wilcoxon</i> g.l. p
♂s pequeños con competición	11,905 1 0,001	4,151 1 0,042		3,274 1 0,070	<i>Estadístico de Wilcoxon</i> g.l. p
♂s grandes con competición	3,862 1 0,049	0,082 1 0,775	3,274 1 0,070		<i>Estadístico de Wilcoxon</i> g.l. p

Comparaciones globales		
Estadístico de Wilcoxon	g.l.	p
14,431	3	0,002

Tabla 3.2. Machos: Estadísticos que reflejan la comparación entre las funciones de supervivencia según el tamaño del macho y el que hubiese uno o dos machos en la cámara. Se presenta la comparación entre las cuatro funciones simultáneamente y comparándolas por parejas

HEMBRAS

	♀ pequeña sin competición	♀ grande sin competición	♀ pequeña con competición	♀ grande con competición	
♀ pequeña sin competición		1,017 1 0,313	3,663 1 0,056	0,742 1 0,389	<i>Estadístico de Wilcoxon</i> g.l. <i>p</i>
♀ grande sin competición	1,017 1 0,313		6,368 1 0,012	2,968 1 0,085	<i>Estadístico de Wilcoxon</i> g.l. <i>p</i>
♀ pequeña con competición	3,663 1 0,056	6,368 1 0,012		2,230 1 0,135	<i>Estadístico de Wilcoxon</i> g.l. <i>p</i>
♀ grande con competición	0,742 1 0,389	2,968 1 0,085	2,230 1 0,135		<i>Estadístico de Wilcoxon</i> g.l. <i>p</i>

Comparaciones globales		
Estadístico de Wilcoxon	g.l.	p
7,897	3	0,048

Tabla 3.2 Hembras:: Estadísticos que reflejan la comparación entre las funciones de supervivencia según el tamaño de la hembra y el que hubiese uno o dos machos en la cámara. Se presenta la comparación entre las cuatro funciones simultáneamente y comparándolas por parejas

TALLA RELATIVA DEL MACHO (COCIENTE MACHO/HEMBRA)

	♂ pequeño sin competición	♂ grande sin competición	♂s pequeños con competición	♂s grandes con competición	
♂ pequeño sin competición		4,468 1 0,035	10,884 1 0,001	9,160 1 0,002	Estadístico de Wilcoxon g.l. p
♂ grande sin competición	4,468 1 0,035		1,366 1 0,242	2,323 1 0,127	Estadístico de Wilcoxon g.l. p
♂s pequeños con competición	10,884 1 0,001	1,366 1 0,242		0,358 1 0,549	Estadístico de Wilcoxon g.l. p
♂s grandes con competición	9,160 1 0,002	2,323 1 0,127	0,358 1 0,549		Estadístico de Wilcoxon g.l. p

Comparaciones globales		
Estadístico de Wilcoxon	g.l.	p
14,956	3	0,002

Tabla 3.2. Cociente macho/hembra: Estadísticos que reflejan la comparación entre las funciones de supervivencia según el tamaño relativo del macho y el que hubiese uno o dos machos en la cámara. Se presenta la comparación entre las cuatro funciones simultáneamente y comparándolas por parejas

		25°C, 1 día	18°C, 4 días	TOTAL
<i>Experimentos iniciales</i>		210	150	360
<i>Todas las moscas vivas</i>		206	141	347
<i>Ambos machos</i>	<i>Tanda 1</i>	162	120	282
	<i>Tanda 2</i>	46	30	76
	<i>Tanda 3</i>	48	28	76
	<i>Tanda 4</i>	31	44	75
	<i>Tanda 5</i>	8	0	8
	<i>Tanda 6</i>	29	18	47
<i>Ambos machos y la hembra</i>	<i>Tanda 1</i>	147	103	250
	<i>Tanda 2</i>	45	27	72
	<i>Tanda 3</i>	46	23	69
	<i>Tanda 4</i>	29	43	72
	<i>Tanda 5</i>	8	0	8
	<i>Tanda 1</i>	19	10	29

Tabla 4.1: Número de experimentos realizados en tubo con machos de dos genotipos diferentes según diferentes circunstancias. Se presentan, para cada una de las condiciones, el número total de experimentos realizados, el número de experimentos en que a la conclusión del mismo todos los participantes continuaban con vida y, de estos, en cuantos pudimos obtener la talla de ambos machos y de ambos machos y la hembra. En estos dos casos se presentan, además, el número de casos de cada tanda.

		Macho wt (mm)			Macho cv (mm)			Hembra (mm)			Macho wt / hembra			Macho cv / hembra		
		Media	SD	n	Media	SD	n	Media	SD	n	Media	SD	n	Media	SD	n
Tanda 1	24°C, 1 día	1,336	0,072	46	1,435	0,084	46	1,579	0,100	45	0,850	0,076	45	0,913	0,084	45
	18°C, 4 días	1,329	0,063	30	1,404	0,071	30	1,536	0,072	27	0,868	0,061	27	0,918	0,069	27
	TOTAL	1,334	0,068	76	1,422	0,080	76	1,562	0,092	72	0,857	0,071	72	0,915	0,079	72
Tanda 2	24°C, 1 día	1,355	0,098	48	1,247	0,088	48	1,386	0,114	46	0,986	0,112	46	0,909	0,100	46
	18°C, 4 días	1,288	0,147	28	1,260	0,091	28	1,373	0,101	23	0,941	0,112	23	0,914	0,103	23
	TOTAL	1,330	0,122	76	1,252	0,089	76	1,381	0,109	69	0,971	0,113	69	0,911	0,100	69
Tanda 3	24°C, 1 día	1,365	0,089	31	1,309	0,147	31	1,523	0,127	29	0,899	0,085	29	0,860	0,121	29
	18°C, 4 días	1,369	0,060	44	1,336	0,088	44	1,493	0,128	43	0,924	0,104	43	0,902	0,101	43
	TOTAL	1,368	0,073	75	1,325	0,116	75	1,505	0,127	72	0,914	0,097	72	0,885	0,111	72
Tanda 4	24°C, 1 día	1,276	0,117	8	1,456	0,073	8	1,618	0,046	8	0,790	0,085	8	0,901	0,058	8
Tanda 5	24°C, 1 día	1,383	0,062	29	1,320	0,055	29	1,454	0,112	19	0,965	0,088	19	0,918	0,089	19
	18°C, 4 días	1,329	0,060	18	1,295	0,075	18	1,404	0,091	10	0,951	0,069	10	0,927	0,070	10
	TOTAL	1,362	0,066	47	1,310	0,064	47	1,437	0,107	29	0,960	0,081	29	0,921	0,082	29
TOTAL	24°C, 1 día	1,353	0,087	162	1,336	0,123	162	1,493	0,137	147	0,914	0,111	147	0,901	0,098	147
	18°C, 4 días	1,334	0,093	120	1,329	0,097	120	1,469	0,122	103	0,916	0,097	103	0,911	0,091	103
	TOTAL	1,345	0,090	282	1,333	0,112	282	1,483	0,132	250	0,915	0,105	250	0,905	0,095	250

Tabla 4.2: Valores medios para las distintas variables relacionadas con la talla (tallas de los machos y hembra, talla relativa de los machos) de los experimentos realizados en tubo con machos de dos genotipos diferentes. Se presentan estos valores para la totalidad de estos experimentos y calculados para cada una de las cinco tandas y para cada una de las dos condiciones.

	n	DIFERENCIA ENTRE CONDICIONES			DIFERENCIA ENTRE TANDAS		
		Test de Mann-Whitney			Test de Kruskal-Wallis		
		U	Z	p	CHI	Df	p
Hembra	250	6533	-1,844	0,065	87,240	4	<0,001
Macho wt	282	8364,5	-2,002	0,045	13,454	4	0,009
Macho cv	282	9193	-0,778	0,436	111,010	4	<0,001
Macho wt / hembra	250	7463	-0,191	0,849	58,146	4	<0,001
Macho cv / hembra	250	7079	-0,873	0,382	6,458	4	0,167

Tabla 4.3 Significación de las diferencias en las variables referidas a la talla (tallas de los machos y hembra, tallas relativas de los macho) de los experimentos realizados en tubo con machos de dos genotipos diferentes. Se realizaron estas comparaciones entre las cinco tandas y entre las dos condiciones.

	Hembra con macho wt			Hembra con macho cv			Macho wt con macho cv		
	σ_s	p	n	σ_s	p	n	σ_s	P	n
<i>Tanda 1</i>	-0,131	0,273	72	0,154	0,197	72	-0,289	0,011	76
<i>Tanda 2</i>	0,025	0,840	69	-0,010	0,933	69	-0,020	0,863	76
<i>Tanda 3</i>	-0,115	0,335	72	0,052	0,667	72	0,096	0,414	75
<i>Tanda 4</i>	-0,738	0,037	8	-0,333	0,420	8	0,095	0,823	8
<i>Tanda 5</i>	0,180	0,349	29	0,119	0,537	29	0,135	0,367	47
<i>TOTAL</i>	-0,111	0,080	250	0,388	<0,001	250	-0,090	0,131	282

Tabla 4.4: Correlaciones entre las tallas en los experimentos realizados en tubo con machos con dos genotipos diferenciables. Se presentan los coeficientes de correlación no paramétricos de Spearman (σ_s) y su significación para la totalidad de estos experimentos y calculados para cada una de las cinco tandas.

	tanda 1			tanda 2			tanda 3			tanda 4			tanda 5			TOTALES		
	U	Z	p	U	Z	p	U	Z	p	U	Z	p	U	Z	p	U	Z	p
Talla hembra	227	-0,569	0,570	210	-1,158	0,247	36,5	-2,960	0,002	6	-0,577	0,686	3	-1,095	0,421	2270,5	-1,470	0,142
Talla wt	227	-0,814	0,416	271	-0,310	0,756	88,5	-1,211	0,230	6	-0,577	0,686	24	-2,928	0,002	2890,5	-1,205	0,228
Talla cv	220	-0,968	0,333	249	-0,766	0,444	98	-0,834	0,421	5	-0,866	0,486	53	-1,513	0,139	3178,5	-0,236	0,814
Talla wt relativa.	239	-0,296	0,767	218	-0,981	0,326	61	-1,886	0,062	6	-0,577	0,686	7	-0,365	0,842	2354	-1,143	0,253
Talla cv relativa	221	-0,705	0,481	210	-1,158	0,247	87	-0,745	0,475	6	-0,577	0,686	1	-1,461	0,211	2601	-0,176	0,860
Diferencia talla machos	238	-0,572	0,567	266,5	-0,403	0,687	117	-0,079	0,953	4	-1,155	0,343	65	-0,927	0,374	3048	-0,675	0,500
Diferencia en valor absoluto	211	-1,165	0,244	269,5	-0,341	0,733	91	-1,111	0,279	4	-1,155	0,343	83	-0,049	0,981	3159,5	-0,300	0,764
Diferencia relativa	236	-0,364	0,716	257	-0,121	0,903	101	-0,132	0,914	4	-1,155	0,343	1	-1,461	0,211	2485	-0,630	0,529
Suma tallas machos	234	-0,660	0,509	254	-0,662	0,508	85	-1,350	0,186	7	-0,289	0,886	30	-2,635	0,007	3205,5	-0,145	0,885
Suma relativa	218	-0,774	0,439	206	-1,246	0,213	67	-1,623	0,110	7	-0,289	0,886	5	-0,730	0,632	2380	-1,041	0,298

Tabla 4.5: Diferencias en las variables referidas a la talla (tallas de machos y hembras, tallas relativas de los machos, diferencia entre las tallas de los machos y suma de las tallas de los machos) entre los tubos en que la hembra copuló y los que no de los experimentos mantenidos un día a 25°C.

MODELO				VARIABLES			
	Modelo	-2LL	p	Variable	wald	df	p
n=162	Modelo nulo	222,997					
	talla wt	222,507	0,484	talla wt	0,489	1	0,485
	talla cv	222,727	0,603	talla cv	0,269	1	0,604
	Diferencia tallas	222,406	0,442	dif tallas	0,589	1	0,443
	suma tallas	222,996	0,983	suma tallas	0,000	1	0,983
	Semanas	217,828	0,270	Semana	4,811	4	0,307
n=147	Modelo nulo	200,775					
	talla hembra	199,714	0,303	talla hembra	1,048	1	0,306
	talla wt relativa	200,001	0,379	talla wt relativa	0,767	1	0,381
	talla cv relativa	200,753	0,881	talla cv relativa	0,022	1	0,881
	Diferencia tallas relativas	200,245	0,466	dif relat	0,528	1	0,468
	suma tallas relativas	200,365	0,522	suma relat	0,407	1	0,524
SIN TANDA 5							
n=144	Modelo nulo	182,334					
	talla wt	182,215	0,730	talla wt	0,119	1	0,730
	talla cv	182,154	0,671	talla cv	0,180	1	0,672
	diferencia tallas	182,314	0,888	dif tallas	0,020	1	0,888
	suma tallas	181,969	0,546	suma tallas	0,364	1	0,547
	Semanas	181,600	0,865	Semana	0,731	3	0,866
n=128	Modelo nulo	177,321					
	talla hembra	176,737	0,445	talla hembra	0,580	1	0,446
	talla wt relativa	177,245	0,783	talla wt relativa	0,076	1	0,783
	talla cv relativa	177,319	0,966	talla cv relativa	0,002	1	0,966
	Diferencia tallas relativas	177,271	0,823	dif relat	0,050	1	0,823
	suma tallas relativas	177,280	0,841	suma relat	0,040	1	0,841

variables en el modelo	MODELO				VARIABLES				
	-2log likelihood	Likelihood Ratio Test	df	p	variables	coef	e.e.	Wald	df p
Talla hembra, Talla cv, Talla cv relativa	169,530	7,791	3	0,051	Constante	50,218	19,453	6,664	1 0,010
					Talla hembra	-34,003	13,222	6,614	1 0,010
					Talla cv	35,160	14,122	6,199	1 0,013
					Talla cv relat.	-51,511	20,505	6,311	1 0,012

Tabla 4.6: Resumen de diferentes regresiones logísticas que se ajustan a la frecuencia de cópula de la hembra en experimentos en tubo on machos de dos genotipos diferentes realizados a 25°C. En la primera tabla las variables se consideran de una en una, incluyéndose el cambio en el -2LogLikelihood que provoca cada modelo y la significación del estadístico de Wald para cada variable. En un segundo bloque de resultados dentro de esta misma tabla se realizan estos mismos análisis descartando la quinta tanda que, por azar, carece de talla de las alas para muchos de los experimentos en que no se dio la cópula. En la segunda tabla se presenta el modelo que considera simultáneamente las variables que resultaron significativas.

	25°C, 1 día				18°C, 4 días					
	n	% copulas macho wt	p	% copulas macho mayor	p	n	% copulas macho wt	p	% copulas macho mayor	p
<i>TOTAL</i>	87	91,95%	<0,001	52,87%	0,668	93	73,12%	<0,001	56,99%	0,213
<i>Tanda 1</i>	24	87,50%	<0,001	29,17%	0,064	27	85,19%	<0,001	33,33%	0,122
<i>Tanda 2</i>	25	92,00%	<0,001	68,00%	0,108	24	70,83%	0,064	83,33%	0,002
<i>Tanda 3</i>	13	100,00%	<0,001	53,85%	1,000	32	65,63%	0,110	62,50%	0,215
<i>Tanda 4</i>	4	100,00%	0,125	0,00%	0,125					
<i>Tanda 5</i>	21	90,48%	<0,001	71,43%	0,078	10	70,00%	0,344	40,00%	0,754

Tabla 4.7: Pruebas para contrastar si la frecuencia con que copula el macho mayor o con que copula el macho de la línea wt es significativamente diferente de la que se obtendría si ambos machos tuvieran la misma probabilidad de conseguirlo. Los análisis se realizan por separado para cada condición experimental (18°C cuatro días o 25°C un día). Además se presentan los resultados de estos mismos análisis realizados para cada una de las cinco tandas.

		25°C, 1 día				18°C, 4 días			
		Diferencia media	t	df	p	Diferencia media	t	df	p
DIFERENCIA (en mm)	TOTAL	0,021	1,136	86	0,259	0,032	2,451	92	0,016
	Tanda 1	-0,083	-2,635	23	0,015	-0,041	-1,901	26	0,069
	Tanda 2	0,097	3,128	24	0,005	0,128	4,963	23	<0,001
	Tanda 3	0,070	1,102	12	0,292	0,035	2,288	31	0,029
	Tanda 4	-0,118	-2,223	3	0,113				
	Tanda 5	0,045	2,091	20	0,049	-0,015	-0,447	9	0,666
	Descartando diferencias pequeñas	0,031	1,136	57	0,261	0,050	2,674	61	0,010
DIFERENCIA RELATIVA	TOTAL	0,013	0,995	81	0,322	0,022	2,232	81	0,028
	Tanda 1	-0,052	-2,664	23	0,014	-0,030	-2,109	24	0,046
	Tanda 2	0,067	2,973	23	0,007	0,096	4,414	20	<0,001
	Tanda 3	0,048	0,934	11	0,370	0,024	2,365	31	0,024
	Tanda 4	-0,073	-2,229	3	0,112				
	Tanda 5	0,024	1,413	17	0,176	-0,056	-1,581	3	0,212
	Descartando diferencias pequeñas	0,021	1,084	55	0,283	0,037	2,425	51	0,019

Tabla 4.8: Análisis de la diferencia de la talla y de la talla relativa entre el macho que copula y el que no en experimentos realizados en tubo con animales de diferente genotipo. Se estudió si dicha diferencia era significativamente distinta de cero dentro de cada condición experimental. Los análisis se realizaron para el conjunto de los experimentos y para cada una de las tandas. El análisis se repite para el conjunto de casos cuando se descartaron las menores diferencias.

	tanda 1			tanda 2			tanda 5			TOTALES		
	U	Z	p	U	U	U	U	Z	p	U	Z	p
hembra	17	-1,266	0,234	15	-0,731	0,522	2	-1,967	0,052	215,5	-0,780	0,435
talla wt	28	-0,306	0,805	17	-0,601	0,600	17	-0,240	0,857	258	-0,343	0,731
talla cv	24	-0,655	0,561	13	-1,002	0,373	6	-1,558	0,152	269	-0,172	0,864
talla wt relativa	30	-0,131	0,935	16	-0,627	0,587	2	-1,967	0,052	212	-0,838	0,402
talla cv relativa	31	-0,044	1,000	21	-0,104	0,957	7	-1,264	0,261	208	-0,904	0,366
diferencia machos	31	-0,044	1,000	18	-0,501	0,667	5	-1,677	0,114	260	-0,312	0,755
diferencia en valor absoluta	24	-0,655	0,561	13	-1,002	0,373	5	-1,677	0,114	244	-0,562	0,574
diferencia relativa	30	-0,131	0,935	17	-0,522	0,652	4	-1,686	0,118	236	-0,440	0,660

Tabla 4.9: Análisis de las diferencias para distintas variables relacionadas con la talla entre los experimentos en que, copulando un único macho, este fue el wt o el cv. El análisis se realiza exclusivamente para los experimentos que se mantuvieron un día a 25°C.

variables en el modelo		MODELO				VARIABLES					
		-2LL	-2LL test	df	p	Variables	coeficiente	e.e.	wald	df	p
n=174	Modelo nulo	241,215									
	talla macho	239,636	1,579	1	0,209	Constante	-2,355	1,895	1,544	1	0,214
						talla macho	1,753	1,406	1,555	1	0,212
	genotipo	97,402	143,813	1	<0,001	Constante	4,872	0,557	76,400	1	<0,001
						genotipo	-2,436	0,394	38,200	1	<0,001
	talla macho, genotipo	97,391	143,824	2	<0,001	Constante	-2,087	3,418	0,373	1	0,541
						talla macho	-0,263	2,559	0,011	1	0,918
						genotipo	4,880	0,563	75,097	1	<0,001
	talla macho, genotipo, talla macho x genotipo	97,153	144,062	3	<0,001	Constante	-3,253	4,299	0,573	1	0,449
						talla macho	0,612	3,200	0,037	1	0,848
						genotipo	8,629	7,910	1,190	1	0,275
						talla macho x genotipo	-2,770	5,802	0,228	1	0,633
	talla macho, diferencia, talla macho x diferencia	176,454	64,761	3	<0,001	Constante	-2,263	3,336	0,460	1	0,498
						talla macho	1,742	2,454	0,504	1	0,478
						diferencia	-128,344	25,838	24,673	1	<0,001
						talla macho x diferencia	95,668	18,947	25,496	1	<0,001
	genotipo, diferencia, genotipo x diferencia	97,385	143,831	3	<0,001	Constante	-2,442	0,401	37,128	1	<0,001
						genotipo	4,885	0,567	74,256	1	<0,001
						diferencia	0,218	2,336	0,009	1	0,926
						genotipo x diferencia	-0,436	3,303	0,017	1	0,895
	talla macho, tanda, talla macho x tanda	207,142	34,074	9	<0,001	Constante	-18,119	8,402	4,650	1	0,031
					talla macho	13,253	6,132	4,671	1	0,031	
					tanda			21,281	4	<0,001	
					talla macho x tanda			21,789	4	<0,001	
genotipo, tanda, genotipo x tanda	90,464	150,751	9	<0,001	Constante	-2,251	0,743	9,171	1	0,002	
					genotipo	4,503	1,051	18,342	1	<0,001	
					tanda			0,280	4	0,991	
					genotipo x tanda			0,559	4	0,967	
talla macho, genotipo, tanda, talla macho x tanda	94,084	147,131	10	<0,001	Constante	13,366	9,614	1,933	1	0,164	
					talla macho	-11,706	7,161	2,672	1	0,102	
					genotipo	5,218	0,706	54,661	1	<0,001	

variables en el modelo		MODELO				VARIABLES					
		-2LL	-2LL test	df	p	Variables	coeficiente	e.e.	wald	df	p
n=174						tanda			3,116	4	0,539
						genotipo x tanda			3,115	4	0,539
	talla macho, genotipo, diferencia, talla macho x diferencia	97,075	144,140	4	<0,001	Constante	-1,596	3,898	0,168	1	0,682
						talla macho	-0,537	2,882	0,035	1	0,852
						genotipo	4,678	0,660	50,168	1	<0,001
						diferencia	-10,477	19,780	0,281	1	0,596
						talla macho x diferencia	7,924	14,895	0,283	1	0,595
n=164	Modelo nulo	227,352									
talla macho relativa	226,631	0,721	1	0,396	Constante	-1,218	1,448	0,707	1	0,400	
					talla macho relativa	1,338	1,582	0,715	1	0,398	
talla macho relativa, genotipo	95,635	131,717	2	<0,001	Constante	-1,883	2,568	0,538	1	0,463	
					talla macho relativa	-0,543	2,826	0,037	1	0,848	
talla macho relativa, genotipo, talla macho relativa x genotipo	94,768	132,584	3	<0,001	Genotipo	4,755	0,564	71,075	1	<0,001	
					Constante	-4,638	3,821	1,474	1	0,225	
					talla macho relativa	2,491	4,137	0,363	1	0,547	
					Genotipo	9,521	5,131	3,443	1	0,064	
					talla macho relativa x genotipo	-5,184	5,482	0,894	1	0,344	
talla macho, talla hembra, talla macho x talla hembra	218,768	8,584	3	0,035	Constante	-63,877	24,212	6,960	1	0,008	
					talla macho	47,996	18,009	7,103	1	0,008	
					talla hembra	42,168	16,303	6,690	1	0,010	
					talla macho x talla hembra	-31,639	12,092	6,846	1	0,009	
genotipo, talla hembra, genotipo x talla hembra	94,904	132,448	3	<0,001	Constante	0,327	4,293	0,006	1	0,939	
					genotipo	-0,654	6,071	0,012	1	0,914	
					talla hembra	-1,835	2,933	0,391	1	0,532	
					genotipo x talla hembra	3,669	4,147	0,783	1	0,376	

Tabla 4.10: Resumen de diferentes regresiones logísticas que tratan de ajustar con que un determinado macho copule en experimentos realizados en tubo con machos de dos genotipos diferentes y mantenidos un día a 25°C. Las variables consideradas son la talla de la hembra, la talla del macho, la talla relativa del macho con respecto a la hembra, la diferencia de talla de este macho con su competidor, el genotipo del macho y la tanda. Se generaron modelos que consideran diferentes variables e interacciones entre estas. El modelo que seleccionamos finalmente incluye la talla de la hembra, el genotipo del macho y la interacción entre estas dos variables.

18°C, 4 días	TALLA MACHOS				TALLA MACHOS RELATIVA			
	Diferencia media	Nº parejas	Z	p	Diferencia media	Nº parejas	Z	p
<i>TOTAL</i>	2,451	93	-2,059	0,039	0,022	82	-1,708	0,088
<i>Tanda 1</i>	-1,901	27	-1,802	0,072	-0,030	25	-2,031	0,042
<i>Tanda 2</i>	4,963	24	-3,771	<0,001	0,096	21	-3,389	0,001
<i>Tanda 3</i>	2,288	32	-1,945	0,052	0,024	32	-1,945	0,052
<i>Tanda 5</i>	-0,447	10	-0,663	0,508	-0,056	4	-1,461	0,144
<i>Descartando diferencias pequeñas</i>	0,050	62	-2,408	0,016	0,037	52	-2,131	0,033

Tabla 4.11: Análisis de la diferencia de la talla y de la talla relativa entre el macho que copula y el que no según el macho copule o no en los experimentos en tubo con dos machos diferentes que se mantuvieron cuatro días a 18°C. Para realizar el análisis se empleo la prueba no paramétrica de análisis de rangos apareados de Wilcoxon. Los análisis se realizaron para el conjunto de los experimentos y para cada una de las tandas. El análisis se repite para el conjunto de casos cuando se descartaron las menores diferencias.

	tanda 1			tanda 2			tanda 3			tanda 4			TOTALES		
	U	Z	p	U	Z	p	U	Z	p	U	Z	p	U	Z	p
hembra	29	-0,334	0,783	22	-1,791	0,080	86	-1,170	0,254	1	-0,775	0,667	456	-2,135	0,033
talla wt	34	-0,819	0,448	2	-3,652	<0,001	85	-1,210	0,238	5	-1,254	0,267	574	-2,392	0,017
talla cv	28	-1,229	0,243	54	-0,349	0,757	88	-1,091	0,289	7	-0,798	0,517	820	-0,260	0,795
talla wt relativa	29	-0,334	0,783	12	-2,569	0,008	100	-0,615	0,558	0	-1,549	0,333	642	-0,188	0,851
talla cv relativa	20	-1,087	0,311	27	-1,401	0,178	85	-1,210	0,238	2	0,000	1,000	482	-1,863	0,062
Diferencia machos	23	-1,570	0,128	8	-3,271	<0,001	76	-1,567	0,123	5	-1,254	0,267	586,5	-2,283	0,022
diferencia en valor absoluta	27	-1,297	0,216	37	-1,429	0,166	76	-1,567	0,123	7	-0,798	0,517	756,5	-0,810	0,418
Diferencia relativa	19	-1,171	0,273	7	-2,958	0,002	74	-1,647	0,104	0	-1,549	0,333	477	-1,915	0,055

Tabla 4.12: Análisis de las diferencias para distintas variables relacionadas con la talla entre los experimentos en que, copulando un único macho, este fue el wt o el cv. El análisis se realiza exclusivamente para los experimentos que se mantuvieron cuatro días a 18°C.

MODELO						VARIABLES					
	variables en el modelo	-2log likelihood	Likelihood Ratio Test	df	p	variable	coeficiente	error estandar	wald	df	p
n=186	Modelo nulo	257,851									
	talla macho	252,601	5,250	1	0,022	Constante	-4,854	2,183	4,945	1	0,026
						talla macho	3,639	1,631	4,980	1	0,026
	genotipo	216,533	41,317	1	<0,001	Constante	-1,001	0,234	18,303	1	<0,001
						genotipo	2,001	0,331	36,605	1	<0,001
	talla macho, genotipo	210,524	47,326	2	<0,001	Constante	-6,793	2,445	7,717	1	0,005
						talla macho	4,319	1,802	5,745	1	0,017
						genotipo	2,061	0,340	36,679	1	<0,001
	talla macho, genotipo, talla macho x genotipo	205,356	52,494	3	<0,001	Constante	-1,512	3,205	0,222	1	0,637
						talla macho	0,384	2,398	0,026	1	0,873
						genotipo	-8,946	4,946	3,271	1	0,070
						talla macho x genotipo	8,275	3,725	4,935	1	0,026
	talla macho, diferencia, talla macho x diferencia	244,295	13,556	3	0,004	Constante	-6,118	2,417	6,406	1	0,011
						talla macho	4,591	1,804	6,473	1	0,011
						diferencia	-35,305	13,580	6,759	1	0,009
						talla macho x diferencia	27,409	10,425	6,912	1	0,009
	genotipo, diferencia, genotipo x diferencia	202,437	55,413	3	<0,001	Constante	-1,081	0,252	18,455	1	<0,001
						genotipo	2,161	0,356	36,910	1	<0,001
						diferencia	-5,275	2,130	6,136	1	0,013
						genotipo x diferencia	10,551	3,012	12,272	1	<0,001
	talla macho, tanda, talla macho x tanda	232,877	24,973	7	0,001	Constante	4,411	8,934	0,244	1	0,622
						talla macho	-3,374	6,826	0,244	1	0,621
						tanda			14,736	3	0,002
						talla macho x tanda			15,118	3	0,002
	genotipo, tanda, genotipo x tanda	210,055	47,796	7	<0,001	Constante	-0,847	0,690	1,508	1	0,220
						genotipo	1,695	0,976	3,015	1	0,082
						tanda			2,882	3	0,410
						genotipo x tanda			5,765	3	0,124

MODELO						VARIABLES					
	variables en el modelo	-2log likelihood	Likelihood Ratio Test	df	p	variable	coeficiente	error estandar	wald	df	p
n=164	Modelo nulo	227,352									
	talla macho relativa	225,067	2,285	1	0,131	Constante	-2,318	1,559	2,209	1	0,137
						talla macho relativa	2,541	1,702	2,229	1	0,135
	talla macho relativa, genotipo	188,000	39,352	2	<0,001	Constante	-3,917	1,818	4,645	1	0,031
						talla macho relativa	3,175	1,949	2,653	1	0,103
						Genotipo	2,042	0,358	32,470	1	<0,001
	talla macho relativa, genotipo, talla macho relativa x genotipo	186,836	40,517	3	<0,001	Constante	-5,846	2,611	5,014	1	0,025
						talla macho relativa	5,257	2,795	3,537	1	0,060
						Genotipo	5,865	3,576	2,690	1	0,101
						talla macho relativa x genotipo	-4,177	3,870	1,165	1	0,280
	talla macho, talla hembra, talla macho x talla hembra	220,635	6,717	3	0,081	Constante	-49,737	29,055	2,930	1	0,087
						talla macho	37,758	21,684	3,032	1	0,082
						talla hembra	31,322	19,878	2,483	1	0,115
						talla macho x talla hembra	-23,785	14,813	2,578	1	0,108
	genotipo, talla hembra, genotipo x talla hembra	180,563	46,790	3	<0,001	Constante	5,927	3,129	3,587	1	0,058
						genotipo	-11,854	4,426	7,174	1	0,007
						talla hembra	-4,749	2,156	4,852	1	0,028
						genotipo x talla hembra	9,499	3,049	9,704	1	0,002

Tabla 4.13: Resumen de diferentes regresiones logísticas que tratan de ajustar con que un determinado macho copule en experimentos realizados en tubo con machos de dos genotipos diferentes y mantenidos cuatro días a 18°C. Las variables consideradas son la talla de la hembra, la talla del macho, la talla relativa del macho con respecto a la hembra, la diferencia de talla de este macho con su competidor, el genotipo del macho y la tanda. Se generaron modelos que consideran diferentes variables e interacciones entre estas. Finalmente encontramos que varios modelos presentan la máxima precisión en el ajuste posible. El primero de ellos incluye la talla del macho, su genotipo y la interacción entre ambas variables y ubica correctamente el 75,8% de los casos. El segundo modelo incluye como variables el genotipo, la diferencia de talla de los machos y su interacción con el genotipo. Este segundo modelo ubica correctamente el 75,3% de los casos.

tanda	densidad	valores	padres	madres	hijos	hijas	n° hembras
PRIMERA TANDA	TOTAL	Media	1,364	1,513	1,513	1,703	60
		SD	0,041	0,047	0,073	0,090	
		N válido	117	52	178	180	
	1♀:1♂	Media	1,363	1,523	1,468	1,652	20
		SD	0,036	0,049	0,042	0,046	
		N válido	19	16	57	60	
	1♀:2♂	Media	1,351	1,514	1,581	1,791	10
		SD	0,047	0,051	0,040	0,036	
		N válido	19	9	45	45	
	1♀:3♂	Media	1,371	1,503	1,518	1,706	2x10
		SD	0,044	0,044	0,076	0,100	
		N válido	50	19	65	64	
	1♀:4♂	Media	1,361	1,520	1,436	1,598	10
		SD	0,035	0,046	0,024	0,031	
		N válido	29	8	11	11	
SEGUNDA TANDA	TOTAL	Media	1,349	1,522	1,490	1,689	53
		SD	0,065	0,064	0,029	0,039	
		N válido	101	42	191	197	
	1♀:1♂	Media	1,340	1,523	1,469	1,659	18
		SD	0,071	0,058	0,022	0,029	
		N válido	17	11	54	54	
	1♀:2♂	Media	1,352	1,508	1,495	1,698	15
		SD	0,057	0,055	0,027	0,029	
		N válido	30	14	69	68	
	1♀:3♂	Media	1,350	1,533	1,501	1,702	2x10
		SD	0,069	0,074	0,029	0,042	
		N válido	54	17	68	75	

tanda	densidad	valores	padres	madres	hijos	hijas	n° hembras
TERCERA TANDA	TOTAL	Media	1,318	1,412	1,439	1,622	40
		SD	0,063	0,098	0,030	0,029	
		N válido	78	35	163	169	
	1♀:1♂	Media	1,343	1,408	1,428	1,612	25
		SD	0,061	0,098	0,025	0,026	
		N válido	28	23	100	104	
	1♀:3♂	Media	1,304	1,419	1,456	1,639	15
		SD	0,060	0,103	0,030	0,026	
		N válido	44	12	63	65	

Tabla 5.1: Valores medios de la talla de machos y hembras en las tres tandas que realizamos de experimentos en que las hembras se enfrentan a diferentes densidades de machos, posibilitando o no que se de la elección de pareja. Se presentan los valores medios tanto de los animales que participaron en el experimento (padres y madres) como de su descendencia (hijos e hijas).

COMPARAR LAS TANDAS

	LAS TRES TANDAS						SIN LA TERCERA TANDA					
	Prueba de Kruskal-Wallis						Prueba de Mann-Whitney					
	PADRES			MADRES			PADRES			MADRES		
	χ^2	gl	p	χ^2	gl	p	U	Z	p	U	Z	p
TOTAL	30,200	2	<0,001	34,038	2	<0,001	5144,5	-1,645	0,100	1022	-0,532	0,594
1♀:1♂	0,743	2	0,690	14,511	2	0,001	151	-0,333	0,754	83	-0,247	0,827
1♀:2♂	0,122	1	0,727	0,480	1	0,488	268	-0,349	0,727	52	-0,693	0,516
1♀:3♂	25,548	2	<0,001	12,664	2	0,002	1098,5	-1,636	0,102	109	-1,664	0,100

Tabla 5.2: Comparación entre las tandas de la talla media de los animales que participaron en los experimentos en que las hembras se enfrentan a diferentes densidades de machos. Puesto que en la tercera tanda tratamos de seleccionar animales de pequeña talla los análisis se repitieron comparando solamente la primera y segunda tanda.

	PADRES			MADRES			Prueba de Kruskal-Wallis
	χ^2	gl	p	χ^2	gl	p	
<i>Primera tanda</i>	4,386	3	0,223	2,338	3	0,505	
<i>Segunda tanda</i>	0,020	2	0,990	2,472	2	0,291	
	U	Z	p	U	Z	p	Prueba de Mann-Withney
<i>Tercera tanda</i>	337,5	-2,544	0,011	109	-0,428	0,687	

Tabla 5.3: Comparación de la talla media de machos y hembras entre experimentos con distintas densidades de machos. Los análisis se realizan independientemente para cada tanda, pues en cada una de ellas las densidades de machos que se emplean son distintas. En la primera tanda realizamos experimentos con densidades 1♀:1♂, 1♀:2♂, 1♀:3♂ y 1♀:4♂, en la segunda de las densidades 1♀:1♂, 1♀:2♂ y 1♀:3♂ mientras que en la tercera solamente de las densidades 1♀:1♂ y 1♀:2♂.

		DENSIDAD							
		1♀:1♂		1♀:2♂		1♀:3♂		1♀:4♂	
		n	%	n	%	n	%	n	%
TOTAL	n° hembras	68		25		55		10	
	sobreviven a la exposición a machos	61	89,71%	23	92,00%	51	92,73%	8	80,00%
	dejan descendencia	49	72,06%	23	92,00%	41	74,55%	2	20,00%
Tanda 1	n° hembras	20		10		2x10		10	
	sobreviven a la exposición a machos	20	100,00%	9	90,00%	19	95,00%	8	80,00%
	dejan descendencia	15	75,00%	9	90,00%	13	65,00%	2	20,00%
Tanda 2	n° hembras	18		15		2x10			
	sobreviven a la exposición a machos	14	77,78%	14	93,33%	18	90,00%		
	dejan descendencia	12	66,67%	14	93,33%	15	75,00%		
Tanda 3	n° hembras	30				15			
	sobreviven a la exposición a machos	27	90,00%			14	93,33%		
	dejan descendencia	22	73,33%			13	86,67%		

Tabla 5.4: Porcentajes de supervivencia de la hembra y porcentaje de hembras fértiles en función de la tanda y la densidad de machos.

COMPARANDO DENSIDADES

	Sobreviven a la exposición a machos			Dejan descendencia		
	χ^2	gl	p	χ^2	gl	p
<i>TOTAL</i>	1,716	3	0,633	18,830	3	<0,001
<i>Tanda 1</i>	4,554	3	0,208	12,527	3	0,006
<i>Tanda 2</i>	2,015	2	0,365	3,424	2	0,181
<i>Tanda 3</i>	0,137	1	0,711	1,029	1	0,310

COMPARANDO TANDAS

	Sobreviven a la exposición a machos			Dejan descendencia		
	χ^2	gl	p	χ^2	gl	p
1♀:1♂	5,071	2	0,079	0,370	2	0,831
1♀:2♂	0,091	1	0,763	0,091	1	0,763
1♀:3♂	0,382	2	0,826	2,124	2	0,346

Tabla 5.5: Estadísticos que reflejan la comparación tanto del porcentaje de supervivencia de las hembras como del número de hembras que dejaron descendencia. En primer lugar se compara el efecto de haber sometido a la hembra a distintas densidades de machos, tanto para el total de los experimentos como dentro de cada tanda. En la segunda tabla se presentan los resultados obtenidos al comparar el efecto de la misma densidad de machos entre distintas tandas.

		cociente macho/hembra	
		padres	hijos
<i>Tanda 1</i>	TOTAL	0,901	0,889
	1♀:1♂	0,895	0,889
	1♀:2♂	0,892	0,883
	1♀:3♂	0,912	0,890
	1♀:4♂	0,896	0,899
<i>Tanda 2</i>	TOTAL	0,886	0,882
	1♀:1♂	0,879	0,885
	1♀:2♂	0,896	0,880
	1♀:3♂	0,881	0,882
<i>Tanda 3</i>	TOTAL	0,933	0,887
	1♀:1♂	0,954	0,886
	1♀:3♂	0,918	0,889

Tabla 5.6: Medias del tamaño relativo de los machos en función de la talla de la hembra. Se presentan estos valores para la totalidad de los casos, dentro de cada tanda y para cada densidad dentro de cada una de éstas, tanto de los padres como de la descendencia. Podemos observar que la talla relativa de los machos de la tercera tanda es sensiblemente mayor, situación que no se refleja en su descendencia, que presenta valores muy parecidos a los de las otras tandas.

	Hijos			Hijas			Media hijos			Media hijas		
	χ^2	gl	p	χ^2	gl	p	χ^2	gl	p	χ^2	gl	p
<i>TOTAL</i>	91,756	3	<0,001	121,000	3	<0,001	22,897	3	<0,001	29,208	3	<0,001
<i>Sin densidad 1♀:4♂</i>	75,297	2	<0,001	101,620	2	<0,001	19,469	2	<0,001	25,331	2	<0,001
<i>Primera tanda</i>	60,050	2	<0,001	65,683	2	<0,001	13,093	2	0,001	14,355	2	<0,001
<i>Segunda tanda</i>	42,833	2	<0,001	55,605	2	<0,001	15,474	2	<0,001	16,906	2	<0,001

Tabla 5.7: Comparación del tamaño de la descendencia en función de la densidad de machos en que sus padres se aparearon. Las comparaciones se realizan empleando los valores de cada individuo y también empleando el tamaño medio de la descendencia de cada hembra participante (media hijos e hijas). Los análisis se realizaron para el total de experimentos de las tandas primera y segunda, descartando la densidad 1♀:4♂ por el bajo número de tubos con descendencia y para cada una de estas tandas separadamente.

COMPARACIONES		Hijos			Hijas			Media hijos			Media hijas		
		U	Z	p	U	Z	p	U	Z	p	U	Z	p
TOTAL	1♀:1♂ frente a 1♀:2♂	2114	-8,630	<0,001	1422,5	-10,144	<0,001	79	-4,192	<0,001	46	-5,068	<0,001
	1♀:1♂ frente a 1♀:3♂	4106	-5,966	<0,001	4085,5	-6,626	<0,001	154	-3,341	0,001	178	-3,220	0,001
	1♀:2♂ frente a 1♀:3♂	6203,5	-2,461	0,014	5965	-3,282	0,001	273	-0,928	0,354	240	-1,552	0,121
Primera tanda	1♀:1♂ frente a 1♀:2♂	38	-8,387	<0,001	12,5	-8,661	<0,001	0	-3,838	<0,001	0	-3,969	<0,001
	1♀:1♂ frente a 1♀:3♂	1199,5	-3,351	0,001	1331	-2,945	0,003	50	-1,523	0,137	66	-1,213	0,239
	1♀:2♂ frente a 1♀:3♂	843	-3,766	<0,001	709	-4,499	<0,001	31	-1,836	0,071	25	-2,237	0,025
Segunda tanda	1♀:1♂ frente a 1♀:2♂	843	-5,198	<0,001	597,5	-6,384	<0,001	28	-2,880	0,003	16	-3,498	<0,001
	1♀:1♂ frente a 1♀:3♂	646,5	-6,131	<0,001	617	-6,722	<0,001	16	-3,611	<0,001	15	-3,660	<0,001
	1♀:2♂ frente a 1♀:3♂	2031	-1,356	0,175	2299	-1,015	0,310	71	-1,484	0,146	95	-0,436	0,683

Tabla 5.8: Comparación del tamaño de la descendencia en función de la densidad de machos en que sus padres se aparearon, comparando las densidades de dos en dos. Los análisis se realizan empleando los valores de cada individuo y también empleando el tamaño medio de la descendencia de cada hembra participante (media hijos e hijas). Se realizaron las comparaciones para el total de experimentos de las tandas primera y segunda descartando la densidad 1♀:4♂ y para cada una de estas tandas separadamente.

Numero de machos		Hijos	Hijas	Media hijos	Media hijas	
10♀:20♂, 15♀:30♂ y 10♀:30♂	χ^2	69,853	73,093	16,779	16,782	Prueba de Kruskal-Wallis
	gl	2	2	2	2	
	p	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	
10♀:20♂ frente a 10♀:30♂	U	955	849	31	25	Prueba de Mann-Withney
	Z	-6,819	-7,337	-3,363	-3,575	
	p	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	
10♀:20♂ frente a 15♀:30♂	U	68	62	0	0	
	Z	-8,606	-8,610	-3,969	-3,969	
	p	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	
10♀:30♂ frente a 15♀:30♂	U	3928,5	4336	150	177	
	Z	-1,675	-0,964	-1,227	-0,507	
	p	0,094	0,335	0,228	0,626	

Tabla 5.9: Comparación del tamaño de la descendencia en función del número total de machos que participaron en cada experimento. Las comparaciones se realizan empleando los valores de cada individuo y también empleando el tamaño medio de la descendencia de cada hembra participante (media hijos e hijas). Comparamos el tamaño de la descendencia entre los tres experimentos de las tandas primera y segunda con densidades 1♀:2♂ y 1♀:3♂: 10♀:20♂, 15♀:30♂ y 10♀:30♂ y emparejándolos dos a dos.

	padres	madres	hijos	hijas	media hijos	media hijas
U	337,5	109	1248	1477	47	36
Z	-2,544	-0,428	-6,482	-6,149	-3,058	-3,653
p	0,011	0,687	<0,001	<0,001	0,002	<0,001

Tabla 5.10: Análisis de la tercera tanda, comparando la talla de los progenitores y la descendencia, individualmente o como talla media de la descendencia de cada hembra, entre las dos densidades (1♀:1♂ frente a 1♀:3♂)

	EDAD	n	MF
♂wt x ♀wt	3-4 días	217	80,65%
	5-6 días	285	82,46%
	7-8 días	263	79,09%
♂wt sin alas x ♀wt	3-4 días	82	42,68%
	5-6 días	58	53,45%
	7-8 días	91	61,54%
♂cv x ♀wt	3-4 días	110	60,00%
	5-6 días	80	65,00%
	7-8 días	31	58,06%
♂cv sin alas x ♀wt	3-4 días	57	52,63%
	5-6 días	34	44,12%
	7-8 días	15	46,67%
♂wt x ♀cv	3-4 días	91	61,54%
	5-6 días	120	82,50%
	7-8 días	101	71,29%
♂wt sin alas x ♀cv	3-4 días	87	17,24%
	5-6 días	139	29,50%
	7-8 días	105	36,19%
♂cv x ♀cv	3-4 días	126	49,21%
	5-6 días	109	58,72%
	7-8 días	120	63,33%
♂cv sin alas x ♀cv	3-4 días	125	15,20%
	5-6 días	103	25,24%
	7-8 días	105	32,38%

Tabla 6.1: Frecuencia de cópula de los diferentes experimentos sin competición realizados en la cámara de cortejo. Los valores fueron calculados para cada tipo de experimentos y según la edad de las moscas.

	EDAD	CL (s)	sd	n
♂wt x ♀wt	3-4 días	271,051	194,268	175
	5-6 días	277,417	194,152	235
	7-8 días	281,538	175,897	208
♂wt sin alas x ♀wt	3-4 días	430,914	197,465	35
	5-6 días	402,806	245,241	31
	7-8 días	483,393	230,759	56
♂cv x ♀wt	3-4 días	310,561	210,981	66
	5-6 días	343,038	207,176	52
	7-8 días	364,944	265,817	18
♂cv sin alas x ♀wt	3-4 días	373,533	214,980	30
	5-6 días	492,067	268,444	15
	7-8 días	219,714	105,022	7
♂wt x ♀cv	3-4 días	308,589	248,687	56
	5-6 días	247,869	188,335	99
	7-8 días	287,361	223,278	72
♂wt sin alas x ♀cv	3-4 días	568,000	144,582	15
	5-6 días	436,902	250,404	41
	7-8 días	431,263	238,479	38
♂cv x ♀cv	3-4 días	289,210	203,080	62
	5-6 días	339,469	219,326	64
	7-8 días	334,895	208,595	76
♂cv sin alas x ♀cv	3-4 días	516,895	230,686	19
	5-6 días	468,000	213,305	26
	7-8 días	419,794	221,657	34

Tabla 6.2: Tiempo hasta la cópula de los diferentes experimentos sin competición realizados en la cámara de cortejo. Los valores fueron calculados para cada tipo de experimentos y según la edad de las moscas.

	MF						CL					
	primer par		segundo par		Kruskal-Wallis		primer par		segundo par		Mann-Whitney	
	MF	n	MF	n	χ^2	gl	CL	sd	CL	sd	U	Z
♂wt x ♀wt / ♂wt sin alas x ♀wt	80,78%	765	52,81%	231	72,688	1	277,002	187,979	447,861	226,406	20842	-7,812
♂wt x ♀wt / ♂wt x ♀cv	80,78%	765	72,76%	312	8,451	1	277,002	187,979	275,374	216,204	66278	-1,229
♂wt x ♀wt / ♂cv x ♀wt	80,78%	765	61,54%	221	35,298	1	277,002	187,979	330,176	216,697	36387	-2,451
♂wt x ♀wt / ♂cv x ♀cv	80,78%	765	56,90%	355	70,526	1	277,002	187,979	322,322	210,525	54876,5	-2,581

CL	♂wt x ♀wt			♂wt x ♀cv			♂cv x ♀wt			♂cv x ♀cv		
	U	Z	p	U	Z	p	U	Z	p	U	Z	p
♂wt x ♀wt				66278	-1,229	0,219	36387	-2,451	0,014	54876,5	-2,581	0,010
♂wt x ♀cv	66278	-1,229	0,219				12681	-2,847	0,004	19176	-2,926	0,003
♂cv x ♀wt	36387	-2,451	0,014	12681	-2,847	0,004				13545	-0,217	0,828
♂cv x ♀cv	54876,5	-2,581	0,010	19176	-2,926	0,003	13545	-0,217	0,828			

MF	♂wt x ♀wt			♂wt x ♀cv			♂cv x ♀wt			♂cv x ♀cv		
	χ^2	gl	p	χ^2	gl	p	χ^2	gl	p	χ^2	gl	p
♂wt x ♀wt				8,451	1	0,004	35,298	1	<0,001	70,526	1	<0,001
♂wt x ♀cv	8,451	1	0,004				7,495	1	0,006	18,189	1	<0,001
♂cv x ♀wt	35,298	1	<0,001	7,495	1	0,006				1,208	1	0,272
♂cv x ♀cv	70,526	1	<0,001	18,189	1	<0,001	1,208	1	0,272			

CL	Prueba de Kruskal-Wallis		
	χ^2	gl	p
Experimentos con machos con alas	15,130	3	0,002
Experimentos con machos sin alas	4,171	3	0,244

Tabla 6.3: Diversas comparaciones de la MF y el CL entre diferentes tipos de experimentos sin competición. En la primera tabla se presentan una serie de comparaciones entre experimentos en que varió un único factor. La segunda y tercera tablas recogen todos las posibles comparaciones de estos experimentos para la MF y el CL respectivamente. La cuarta tabla recoge las comparaciones del CL entre los cuatro experimentos en que participan machos con alas o machos sin alas.

	MF			CL		
	χ^2	gl	p	χ^2	gl	p
♂wt x ♀wt	24,196	9	0,004	31,887	9	<0,001
♂wt x ♀cv	60,503	11	<0,001	26,802	11	0,005

Tabla 6.4: Efecto de la variable “mes” sobre la MF y el CL. La tabla recoge la significación de las diferencias para ambas variables cuando se comparan los resultados obtenidos en los doce meses.

	talla macho			talla hembra		
	Media	SD	n	Media	SD	n
♂wt x ♀wt	1,218	0,096	38	1,403	0,068	38
♂wt sin alas x ♀wt	1,220	0,060	22	1,385	0,062	22
♂cv x ♀wt	1,274	0,058	16	1,398	0,078	16
♂wt x ♀cv	1,228	0,078	28	1,431	0,077	28
♂cv x ♀cv	1,252	0,072	17	1,385	0,090	17

comparando tallas moscas
wt con moscas cv

	Prueba de Mann-Withney		
	U	Z	p
machos	1383,5	-2,372	0,018
hembras	2155,5	-0,384	0,701

comparando la talla de moscas
entre experimentos del mismo
genotipo

	wt			cv		
	χ^2	gl	p	U	Z	p
machos	5,909	2	0,052	110,5	-0,919	0,363
hembras	4,217	2	0,121	172	-1,545	0,122

Tabla 6.5: Efecto de la talla cuando en los experimentos se consideran otras variables. La primera tabla recoge las tallas medias de las moscas que participaron en los diferentes tipos de experimentos comparados. En la segunda tabla se nos muestra la comparación de las tallas de las moscas de la línea wt o cv. En la tercera tabla se comparan, dentro de cada genotipo, las tallas que participaron en unos u otros experimentos. Las moscas wt participaron en tres experimentos, mientras que las cv solo lo hicieron en dos.

MODELO						VARIABLES					
	variables en el modelo	"-2log likelihood"	Likelihood Ratio Test	gl	p	variables	coeficiente	error estandar	Wald	gl	p
$\text{♂wt} \times \text{♀wt} / \text{♂wt sin alas} \times \text{♀wt}$	Modelo nulo	77,694				intersección					
	talla hembra, talla macho, hembra x macho, alas	48,901	28,793	4	<0,001	intersección	2,410	126,857	0,000	1	0,985
						talla macho	-5,919	106,532	0,003	1	0,956
						talla hembra	-3,778	90,329	0,002	1	0,967
						hembra x macho	5,214	75,888	0,005	1	0,945
						alas	3,351	0,742	20,378	1	<0,001
$\text{♂wt} \times \text{♀wt} / \text{♂wt} \times \text{♀cv}$	Modelo nulo	59,474				intersección					
	talla hembra, talla macho, hembra x macho, genotipo hembra	49,270	10,204	4	0,037	intersección	191,885	152,987	1,573	1	0,210
						talla macho	-146,415	124,632	1,380	1	0,240
						talla hembra	-137,791	106,193	1,684	1	0,194
						hembra x macho	106,017	86,569	1,500	1	0,221
						genotipo hembra	1,232	0,783	2,472	1	0,116
$\text{♂wt} \times \text{♀wt} / \text{♂cv} \times \text{♀wt}$	Modelo nulo	54,593				intersección					
	talla hembra, talla macho, hembra x macho, genotipo macho	43,056	11,537	4	0,021	intersección	43,121	117,682	0,134	1	0,714
						talla macho	-40,354	96,514	0,175	1	0,676
						talla hembra	-38,332	82,932	0,214	1	0,644
						hembra x macho	34,901	68,129	0,262	1	0,608
						genotipo macho	2,648	0,927	8,170	1	0,004
$\text{♂wt} \times \text{♀wt} / \text{♂cv} \times \text{♀cv}$	Modelo nulo	57,706				intersección					
	talla hembra, talla macho, hembra x macho, genotipo macho, genotipo hembra	45,887	11,819	4	0,019	intersección	92,428	107,216	0,743	1	0,389
						talla macho	-70,408	85,227	0,682	1	0,409
						talla hembra	-68,980	74,766	0,851	1	0,356
						hembra x macho	52,772	59,575	0,785	1	0,376
						genotipo hembra	2,304	0,819	7,912	1	0,005

Tabla 6.6: Resumen de varias regresiones logísticas que consideran la talla de las moscas además del genotipo de machos o hembras o la presencia de alas.

	EDAD	n	MF
♂wt/♂wt x ♀wt	3-4 días	90	93,33%
	5-6 días	105	84,76%
	7-8 días	18	88,89%
♂cv/♂cv x ♀wt	3-4 días	39	76,92%
	5-6 días	24	79,17%
	7-8 días	12	66,67%
♂wt/♂wt x ♀cv	3-4 días	69	53,62%
	5-6 días	34	50,00%
	7-8 días	24	91,67%
♂cv/♂cv x ♀cv	3-4 días	63	34,92%
	5-6 días	70	68,57%
	7-8 días	16	43,75%

Tabla 7.1: Frecuencia de cópula de los diferentes experimentos realizados en la cámara de cortejo en que compiten dos machos iguales. Los valores fueron calculados para cada tipo de experimentos y según la edad de las moscas.

	EDAD	CL (s)	sd	n
$\text{♂wt}/\text{♂wt} \times \text{♀wt}$	3-4 días	251,607	186,694	84
	5-6 días	269,820	210,466	89
	7-8 días	308,250	242,661	16
$\text{♂cv}/\text{♂cv} \times \text{♀wt}$	3-4 días	324,233	197,364	30
	5-6 días	250,211	167,961	19
	7-8 días	336,500	152,954	8
$\text{♂wt}/\text{♂wt} \times \text{♀cv}$	3-4 días	393,135	229,322	37
	5-6 días	304,000	244,775	17
	7-8 días	219,682	164,912	22
$\text{♂cv}/\text{♂cv} \times \text{♀cv}$	3-4 días	326,364	182,451	22
	5-6 días	264,292	152,092	48
	7-8 días	394,857	272,569	7

Tabla 6.2: Tiempo hasta la cópula de los diferentes experimentos realizados en la cámara de cortejo en que compiten dos machos iguales. Los valores fueron calculados para cada tipo de experimentos y según la edad de las moscas

Tabla 7.3:

CAMBIO EN LA HEMBRA

MACHOS	MF							CL						
	hembra wt		hembra cv		χ^2	gl	p	hembra wt		hembra cv		U	Z	p
	MF	n	MF	n				CL	sd	CL	sd			
wt	88,73%	213	59,84%	127	38,623	1	<0,001	264,979	202,659	322,987	226,449	6084,5	-1,945	0,052
cv	76,00%	75	51,68%	149	12,279	1	<0,001	301,281	183,053	293,896	176,539	2171,5	-0,104	0,918

CAMBIO EN LOS MACHOS

HEMBRA	MF							CL						
	machos wt		machos cv		χ^2	gl	p	machos wt		machos cv		U	Z	p
	MF	n	MF	n				CL	sd	CL	sd			
wt	88,73%	213	76,00%	75	7,219	1	0,007	264,979	202,659	301,281	183,053	4481,5	-1,922	0,055
cv	59,84%	127	51,68%	149	1,850	1	0,174	322,987	226,449	293,896	176,539	2866,5	-0,217	0,828

INCREMENTO DEL NUMERO DE MACHOS

TIPO	MF							CL						
	un macho		dos machos		χ^2	gl	p	un macho		dos machos		U	Z	p
	MF	n	MF	n				CL	sd	CL	sd			
♂wt x ♀wt	80,78%	765	88,73%	213	7,295	1	0,007	277,002	187,979	264,979	202,659	54178,5	-1,506	0,132
♂cv x ♀wt	61,54%	221	76,00%	75	5,162	1	0,023	330,176	216,697	301,281	183,053	3679	-0,556	0,578
♂wt x ♀cv	72,76%	312	59,84%	127	7,040	1	0,008	275,374	216,204	322,987	226,449	7418,5	-1,827	0,068
♂cv x ♀cv	56,90%	355	51,68%	149	1,159	1	0,282	322,322	210,525	293,896	176,539	7378,5	-0,661	0,508

Tabla 7.3: Diversas comparaciones de la MF y el CL entre diferentes tipos de experimentos en que compiten dos machos iguales y sin competición. En la primera tabla se presentan una serie de comparaciones entre parejas de experimentos en que varió el genotipo de la hembra. La segunda tablas recoge estas mismas comparaciones variando el genotipo del macho. La tercera tabla recoge las comparaciones entre experimentos con y sin competición que se distinguen en presentar uno o dos machos manteniendo los valores de las otras variables.

	EDAD	DE LA HEMBRA		DE CADA MACHO	
		n	MF	macho	MF
$\text{♂wt}/\text{♂cv} \times \text{♀cv}$	3-4 días	15	80,00%	♂wt ♂cv	60,00% 20,00%
	5-6 días	22	72,73%	♂wt ♂cv	54,55% 18,18%
$\text{♂wt}/\text{♂wt sin alas} \times \text{♀wt}$	3-4 días	63	74,60%	♂wt ♂wt sin alas	38,10% 36,51%
	5-6 días	32	81,25%	♂wt ♂wt sin alas	46,88% 34,38%
	7-8 días	80	78,75%	♂wt ♂wt sin alas	37,50% 41,25%
$\text{♂wt}/\text{♂cv sin alas} \times \text{♀cv}$	3-4 días	22	63,64%	♂wt ♂cv sin alas	63,64% 0,00%
	5-6 días	40	57,50%	♂wt ♂cv sin alas	40,00% 17,50%
	7-8 días	47	57,45%	♂wt ♂cv sin alas	44,68% 12,77%
$\text{♂cv}/\text{♂wt sin alas} \times \text{♀cv}$	3-4 días	47	10,64%	♂wt sin alas ♂cv	4,26% 6,38%
	5-6 días	72	54,17%	♂wt sin alas ♂cv	2,78% 51,39%
	7-8 días	52	40,38%	♂wt sin alas ♂cv	11,54% 28,85%

Tabla 8.1: Frecuencia de cópula de los diferentes experimentos realizados en la cámara de cortejo en que compiten dos machos diferentes. Los valores fueron calculados para cada tipo de experimentos y según la edad de las moscas. Se presentan en primer lugar los valores obtenidos si consideramos la frecuencia de cópula de la hembra y a continuación la frecuencia registrada por cada uno de los machos. La suma de estas dos frecuencias es la frecuencia de cópula de la hembra.

	EDAD	DE LA HEMBRA			DE CADA MACHO			
		CL(s)	sd	n	macho	CL(s)	sd	n
$\text{♂wt}/\text{♂cv} \times \text{♀cv}$	3-4 días	284,167	179,819	12	♂wt	245,889	123,470	9
					♂cv	399,000	300,814	3
	5-6 días	240,581	192,930	16	♂wt	222,183	189,446	12
					♂cv	295,775	221,582	4
$\text{♂wt}/\text{♂wt sin alas} \times \text{♀wt}$	3-4 días	264,319	171,321	47	♂wt	248,542	195,242	24
					♂wt sin alas	280,783	144,786	23
	5-6 días	285,885	210,999	26	♂wt	185,200	136,715	15
					♂wt sin alas	423,182	221,793	11
	7-8 días	323,206	225,216	63	♂wt	285,500	239,337	30
					♂wt sin alas	357,485	209,326	33
$\text{♂wt}/\text{♂cv sin alas} \times \text{♀cv}$	3-4 días	421,000	267,133	14	♂wt	421,000	267,133	14
					♂cv sin alas	.	.	0
	5-6 días	380,174	222,179	23	♂wt	327,438	203,157	16
					♂cv sin alas	500,714	231,194	7
	7-8 días	377,704	225,712	27	♂wt	350,714	193,340	21
					♂cv sin alas	472,167	318,793	6
$\text{♂cv}/\text{♂wt sin alas} \times \text{♀cv}$	3-4 días	412,600	330,899	5	♂wt sin alas	753,500	194,454	2
					♂cv	185,333	79,965	3
	5-6 días	321,795	206,217	39	♂wt sin alas	810,000	120,208	2
					♂cv	295,405	174,727	37
	7-8 días	442,667	232,256	21	♂wt sin alas	531,333	242,230	6
					♂cv	407,200	226,691	15

Tabla 8.2: Tiempo hasta la cópula de los diferentes experimentos realizados en la cámara de cortejo en que compiten dos machos diferentes. Los valores fueron calculados para cada tipo de experimentos y según la edad de las moscas. Se presentan en primer lugar los valores obtenidos si consideramos el tiempo hasta la cópula de la hembra y a continuación los valores registrados para cada uno de los machos. El tiempo hasta la cópula de la hembra es un valor intermedio entre los de los dos machos, aunque no necesariamente su media

COMPARANDO LA HEMBRA

	MF					CL				
	MF	n				CL	sd			
♂wt/♂cv x ♀cv	75,68%	37				259,261	185,297			
	MF	n	χ^2	gl	p	CL	sd	U	Z	p
♂wt/♂wt x ♀cv	59,84%	127	3,096	1	0,078	322,987	226,449	920	-1,055	0,291
♂cv/♂cv x ♀cv	51,68%	149	6,943	1	0,008	293,896	176,539	961	-0,848	0,397
♂wt x ♀cv	72,76%	312	0,143	1	0,705	275,374	216,204	3166,5	-0,031	0,975
♂cv x ♀cv	56,90%	355	4,871	1	0,027	322,322	210,525	2383,5	-1,347	0,178

COMPARANDO LOS MACHOS

	MF							CL						
	♂wt/♂cv x ♀cv		♂ x ♀cv					♂wt/♂cv x ♀cv		♂ x ♀cv				
	MF	n	MF	n	χ²	gl	p	t	sd	t	sd	U	Z	p
♂wt	56,76%	37	72,76%	312	4,117	1	0,042	232,343	161,189	275,374	216,204	2240	-0,456	0,648
♂cv	18,92%	37	56,90%	355	19,422	1	<0,001	340,014	240,326	322,322	210,525	660	-0,299	0,765
	♂wt/♂cv x ♀cv		1/2 (2♂ x ♀cv)											
	MF	n	MF	n	χ²	gl	p							
♂wt	56,76%	37	29,92%	127	8,958	1	0,003							
♂cv	18,92%	37	26,17%	149	0,838	1	0,360							

Tabla 8.3: Todas las posibles comparaciones de los valores obtenidos en los experimentos del tipo ♂wt/♂cv x ♀cv. Se comparan tanto la MF como el CL con diversos experimentos, con y sin competición, tanto para los valores obtenidos por los machos como para las hembras. En la primera tabla, la referida a los valores de las hembras, se comparan los resultados obtenidos con el registrado en este experimento, que se presenta separadamente unas filas mas arriba. En la segunda tabla los valores comparados se presentan sucesivamente.

COMPARANDO LA HEMBRA										
	MF					CL				
	MF	n				CL	sd			
♂wt/♂wt sin alas x ♀wt	77,71%	175				295,721	205,5594			
	MF	n	χ^2	gl	p	CL	sd	U	Z	p
♂wt/♂wt x ♀wt	88,73%	213	8,575	1	0,003	264,979	202,659	11556	-1,551	0,121
♂wt x ♀wt	80,78%	765	0,846	1	0,358	277,002	187,979	40597,5	-0,620	0,535
♂wt sin alas x ♀wt	52,81%	231	26,651	1	<0,001	447,861	226,406	5010,5	-5,490	<0,001

COMPARANDO LOS MACHOS

	MF							CL						
	♂wt/♂wt sin alas x ♀wt		♂ x ♀wt					♂wt/♂wt sin alas x ♀wt		♂ x ♀wt				
	MF	n	MF	n	χ²	gl	p	CL	sd	CL	sd	U	Z	p
♂wt	39,43%	175	80,78%	765	123,829	1	<0,001	250,841	206,526	277,002	187,979	18384,5	-1,878	0,060
♂wt sin alas	38,29%	175	52,81%	231	8,446	1	0,004	341,940	195,474	447,861	226,406	2942,5	-3,181	0,001
	♂wt/♂wt sin alas x ♀wt		1/2 (2♂ x ♀wt)											
	MF	n	MF	n	χ²	gl	p							
♂wt	39,43%	175	44,13%	213	0,872	1	0,350							

Tabla 8.4: Todas las posibles comparaciones de los valores obtenidos en los experimentos del tipo ♂wt/♂wt sin alas x ♀wt. Se comparan tanto la MF como el CL con diversos experimentos, con y sin competición, tanto para los valores obtenidos por los machos como para las hembras. En la primera tabla, la referida a los valores de las hembras, se comparan los resultados obtenidos con el registrado en este experimento, que se presenta separadamente unas filas mas arriba. En la segunda tabla los valores comparados se presentan sucesivamente. Es importante notar que carecemos de valores para experimentos en que compiten dos machos iguales sin alas, es no realizamos este tipo de experimentos

COMPARANDO LA HEMBRA										
	MF					CL				
	MF	n				CL	sd			
♂wt/♂cv sin alas x ♀cv	58,72%	109				388,063	230,864			
	MF	n	χ^2	gl	p	CL	sd	U	Z	p
♂wt/♂wt x ♀cv	59,84%	127	0,031	1	0,861	322,987	226,449	1986	-1,866	0,062
♂wt x ♀cv	72,76%	312	7,461	1	0,006	275,374	216,204	4997	-3,813	<0,001
♂cv sin alas x ♀cv	23,72%	333	45,943	1	<0,001	459,013	221,729	2040,5	-1,979	0,048

COMPARANDO LOS MACHOS															
MF									CL						
	♂wt/♂cv sin alas x ♀cv		♂ x ♀cv						♂wt/♂cv sin alas x ♀cv		♂ x ♀cv				
	MF	n	MF	n	χ^2	gl	p		CL	sd	CL	sd	U	Z	p
♂wt	46,79%	109	72,76%	312	24,285	1	<0,001		362,706	217,480	275,374	216,204	4245	-2,975	0,003
♂cv sin alas	11,93%	109	23,72%	333	6,934	1	0,008		487,538	263,230	459,013	221,729	485,5	-0,314	0,754
	♂wt/♂wt sin alas x ♀wt		1/2 (2♂ x ♀wt)												
	MF	n	MF	n	χ^2	gl	p								
♂wt	46,79%	109	29,92%	127	7,105	1	0,008								

Tabla 8.5: Todas las posibles comparaciones de los valores obtenidos en los experimentos del tipo ♂wt/♂cv sin alas x ♀cv. Se comparan tanto la MF como el CL con diversos experimentos, con y sin competición, tanto para los valores obtenidos por los machos como para las hembras. En la primera tabla, la referida a los valores de las hembras, se comparan los resultados obtenidos con el registrado en este experimento, que se presenta separadamente unas filas mas arriba. En la segunda tabla los valores comparados se presentan sucesivamente. Es importante notar que carecemos de valores para experimentos en que compiten dos machos iguales sin alas, es no realizamos este tipo de experimentos

COMPARANDO LA HEMBRA										
	MF					CL				
	MF	n				CL	sd			
♂cv/♂wt sin alas x ♀cv	38,01%	171				367,831	228,552			
	MF	n	χ^2	gl	p	CL	sd	U	Z	p
♂cv/♂cv x ♀cv	51,68%	149	6,024	1	0,014	293,896	176,539	2071,5	-1,765	0,078
♂cv x ♀cv	56,90%	355	16,476	1	<0,001	322,322	210,525	5814	-1,387	0,165
♂wt sin alas x ♀cv	28,40%	331	4,814	1	0,028	455,543	234,896	2380	-2,365	0,018

COMPARANDO LOS MACHOS													
	MF						CL						
	♂cv/♂wt sin alas x ♀cv		♂ x ♀cv				♂cv/♂wt sin alas x ♀cv		♂ x ♀cv				
	MF	n	MF	n	χ^2	gl	CL	sd	CL	sd	U	Z	p
♂cv	32,16%	171	56,90%	355	28,265	1	319,891	193,513	322,322	210,525	5478,5	-0,157	0,876
♂wt sin alas	5,85%	171	28,40%	331	34,909	1	631,500	235,545	455,543	234,896	263	-2,282	0,022
	♂cv/♂wt sin alas x ♀cv		1/2 (2♂ x ♀wt)										
	MF	n	MF	n	χ^2	gl							
♂cv	32,16%	171	26,17%	149	1,377	1	0,241						

Tabla 8.6: Todas las posibles comparaciones de los valores obtenidos en los experimentos del tipo ♂cv/♂wt sin alas x ♀cv. Se comparan tanto la MF como el CL con diversos experimentos, con y sin competición, tanto para los valores obtenidos por los machos como para las hembras. En la primera tabla, la referida a los valores de las hembras, se comparan los resultados obtenidos con el registrado en este experimento, que se presenta separadamente unas filas mas arriba. En la segunda tabla los valores comparados se presentan sucesivamente. Es importante notar que carecemos de valores para experimentos en que compiten dos machos iguales sin alas, es no realizamos este tipo de experimentos

	MF	n	MF χ^2	gl	p	CL	sd	CL U	Z	p
♂wt/♂wt x ♀wt	88,73%	213	8,575	1	0,003	264,979	202,659	11556	-1,551	0,121
♂wt/♂wt sin alas x ♀wt	77,71%	175				295,721	205,559			
♂wt/♂cv x ♀cv	75,68%	37	3,409	1	0,065	259,261	185,297	612	-2,410	0,016
♂wt/♂cv sin alas x ♀cv	58,72%	109				388,063	230,864			
♂wt/♂cv x ♀cv	75,68%	37	17,456	1	<0,001	259,261	185,297	668,5	-2,023	0,043
♂cv/♂wt sin alas x ♀cv	38,01%	171				367,831	228,552			

Tabla 8.7: Comparaciones entre tres parejas de experimentos con competición en que el único factor que les distingue es que uno de los competidores carezca o no de alas. Se comparan tanto los valores de frecuencia de cópula como de tiempo hasta la cópula.

MODELO					VARIABLES					
variables en el modelo	-2log likelihood	Likelihood Ratio Test	gl	p	variables	coeficiente	error estandar	Wald	gl	p
modelo nulo	3616,872									
genotipo hembra	3446,136	170,737	1	<0,001	Constante	-0,191	0,055	12,081	1	0,001
					genotipo hembra	1,046	0,081	164,586	1	<0,001
genotipo macho	3528,907	87,965	1	<0,001	Constante	-0,152	0,063	5,830	1	0,016
					genotipo macho	0,759	0,081	86,901	1	<0,001
alas	3265,666	351,206	1	<0,001	Constante	-0,634	0,066	91,065	1	<0,001
					alas	1,557	0,086	328,257	1	<0,001
edad	3593,717	23,155	2	<0,001	Constante	0,458	0,071	41,353	1	<0,001
					edad			23,152	2	<0,001
					edad=1	-0,411	0,098	17,700	1	<0,001
					edad=2	-0,025	0,098	0,063	1	0,802
hora	3549,538	67,334	9	<0,001	Constante	0,074	0,385	0,037	1	0,847
					hora			65,828	9	<0,0001
					hora=1	0,777	0,406	3,652	1	0,056
					hora=2	0,478	0,400	1,426	1	0,232
					hora=3	0,466	0,412	1,279	1	0,258
					hora=4	0,202	0,478	0,179	1	0,672
					hora=6	0,519	0,400	1,689	1	0,194
					hora=7	-0,082	0,395	0,043	1	0,836
					hora=8	-0,234	0,400	0,344	1	0,558
					hora=9	0,132	0,403	0,106	1	0,744
					hora=10	0,193	0,415	0,218	1	0,641

MODELO					VARIABLES					
variables en el modelo	-2log likelihood	Likelihood Ratio Test	gl	p	variables	coeficiente	error estandar	Wald	gl	p
mes	3408,755	208,117	11	<0,001	Constante	0,491	0,176	7,791	1	0,005
					mes			176,464	11	<0,001
					mes=1	0,188	0,228	0,679	1	0,410
					mes=2	-0,161	0,325	0,246	1	0,620
					mes=3	0,435	0,260	2,798	1	0,094
					mes=4	-0,171	0,203	0,711	1	0,399
					mes=5	-1,952	0,271	51,879	1	<0,001
					mes=6	0,172	0,230	0,561	1	0,454
					mes=7	-1,309	0,241	29,425	1	<0,001
					mes=8	-0,569	0,220	6,707	1	0,010
					mes=9	-0,073	0,205	0,125	1	0,724
					mes=10	0,183	0,223	0,675	1	0,411
					mes=11	0,289	0,212	1,857	1	0,173

Tabla 9.1: Efecto de la incorporación de una única variable a la regresión logística que ajusta a la frecuencia de cópula de los experimentos sin competición. Se observa el cambio que provoca la incorporación de cada una de las posibles variables (genotipo del macho y de la hembra, presencia o ausencia de alas en el macho, edad de las moscas, hora del día o mes) en el modelo. Se presenta, además del efecto global de cada variable, el efecto de cada una de las variables dummy que representan cada posible valor que pueden tomar las variables con más de dos opciones (hora del día, edad, mes).

Modelos	"-2log likelihood"
Modelo nulo	3616,872
presencia de alas, mes	3142,342
genotipo hembra, alas	3182,182
genotipo macho, alas	3197,243
presencia de alas, hora	3222,186
presencia de alas, edad	3243,072
genotipo hembra, mes	3246,416
genotipo macho, mes	3305,737
hora, mes	3354,379
edad, mes	3386,163
genotipo hembra, hora	3388,941
genotipo hembra, genotipo macho	3408,299
genotipo hembra, edad	3416,807
genotipo macho, hora	3465,244
genotipo macho, edad	3515,023
edad, hora	3528,476

Tabla 9.2: Efecto de la incorporación de una pareja de variables al modelo. Se observa el cambio que provoca la incorporación de todas las posibles parejas de variables en la regresión logística que ajusta a la frecuencia de cópula de los experimentos sin competición. Las parejas están ordenadas según la disminución que causan en el -2LogLikelihood

PRIMERA VARIABLE		SEGUNDA VARIABLE					
		genotipo hembra	genotipo macho	alas	edad	hora	mes
genotipo hembra	Likelihood Ratio Test		5,109	8,485	2,789	8,775	90,627
	gl		1	1	2	9	9
	p		0,024	0,004	0,248	0,458	<0,001
genotipo macho	Likelihood Ratio Test	5,109		9,965	0,485	23,786	55,658
	gl	1		1	2	9	11
	p	0,024		0,002	0,785	0,005	<0,001
alas	Likelihood Ratio Test	8,485	9,965		6,571	11,606	89,814
	gl	1	1		2	9	11
	p	0,004	0,002		0,037	0,236	<0,001
edad	Likelihood Ratio Test	2,789	0,485	6,571		51,164	104,945
	gl	2	2	2		18	21
	p	0,248	0,785	0,037		<0,001	<0,001
hora	Likelihood Ratio Test	8,775	23,786	11,606	51,164		213,882
	gl	9	9	9	18		81
	p	0,458	0,005	0,236	<0,001		<0,001
mes	Likelihood Ratio Test	90,627	55,658	89,814	104,945	213,882	
	gl	9	11	11	21	81	
	p	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	

Tabla 9.3: Efecto de la interacción de dos variables con respecto al modelo sin esta interacción. En las casillas en que se cruzan la fila de la primera variable con la columna de la segunda variable se presentan los estadísticos que dan cuenta del efecto de la incorporación de la interacción de estas dos variables respecto al modelo con estas mismas variables pero sin interacción.

MODELO					VARIABLES					
Variables en el modelo	-2log likelihood	Likelihood Ratio Test	gl	p	variables	coeficiente	error estandar	Wald	gl	p
modelo nulo	3616,872									
genotipo hembra, genotipo macho, alas, edad, hora, mes, hembra x macho, hembra x alas, macho x alas, edad x hora	2921,122	695,751	46	<0,001	Constante	17,966	23215,389	0,000	1	0,999
					genotipo hembra	0,850	0,214	15,825	1	<0,001
					genotipo macho	0,029	0,178	0,027	1	0,870
					alas	1,296	0,188	47,536	1	<0,001
					edad			1,583	2	0,453
					hora			9,071	9	0,431
					mes			110,055	11	<0,001
					hembra x macho	0,297	0,209	2,017	1	0,156
					hembra x alas	-0,686	0,212	10,524	1	0,001
					macho x alas	0,757	0,219	11,916	1	0,001
					edad x hora			22,312	18	0,218
filtración del ordenador de las interacciones presentes en el modelo previo	2945,728	671,144	27	<0,001	Constante	-1,243	0,514	5,850	1	0,016
					genotipo hembra	1,080	0,157	47,501	1	<0,001
					genotipo macho	0,101	0,161	0,394	1	0,530
					alas	1,290	0,185	48,842	1	<0,001
					edad			16,315	2	<0,001
					hora			28,594	9	0,001
					mes			107,806	11	<0,001
					hembra x alas	-0,715	0,206	12,001	1	0,001
					macho x alas	0,808	0,212	14,525	1	<0,001

Tabla 9.4: Resultado de pedir al programa que descarte las interacciones entre dos variables menos significativas de las cuatro que, en principio, presentaban mayor interés biológico (genotipo del macho x genotipo de la hembra; presencia de alas x genotipo del macho; presencia de alas x genotipo de la hembra; edad x hora del día). En las interacciones de la tabla macho y hembra se refieren, respectivamente, al genotipo del macho o la hembra. Mientras que alas se refiere a la presencia o no de alas en el macho.

MODELO INICIAL	-2Log Likelihood	INTERACCIONES INCORPORADAS	-2Log Likelihood	Likelihood Ratio Test	gl	p
genotipo hembra, genotipo macho, alas, edad, hora, mes, hembra x alas, macho x alas	2945,728	edad x hora	2923,139	22,589	18	0,207
		mes x hembra	2909,913	35,815	9	<0,001
		mes x macho	2921,617	24,111	11	0,012
		mes x alas	2915,662	30,066	11	0,002
		mes x edad	2915,286	30,441	21	0,083
		mes x hora	2822,779	122,949	81	0,002

Tabla 9.5: Respecto al modelo seleccionado por el ordenador en el anterior paso (ver tabla 9.5), efecto de incorporar interacciones adicionales entre las variables.

Variables en la ecuación	Coefficiente	Error estandar	Wald	gl	P
Constante	-0,606	0,842	0,517	1	0,472
hembra wt	0,454	0,553	0,673	1	0,412
macho wt	0,083	0,182	0,206	1	0,650
macho con alas	0,684	0,669	1,045	1	0,307
edad			7,132	2	0,028
edad=1	-0,290	0,130	4,979	1	0,026
edad=2	0,002	0,134	0,000	1	0,985
hora			22,904	9	0,006
hora=1	0,734	0,494	2,203	1	0,138
hora=2	0,619	0,486	1,619	1	0,203
hora=3	0,579	0,495	1,372	1	0,242
hora=4	0,123	0,568	0,047	1	0,828
hora=6	0,493	0,485	1,036	1	0,309
hora=7	0,127	0,478	0,070	1	0,791
hora=8	0,035	0,483	0,005	1	0,942
hora=9	0,273	0,486	0,316	1	0,574
hora=10	0,108	0,498	0,047	1	0,829
mes			86,998	11	<0,001
mes=1	1,527	1,297	1,384	1	0,239
mes=2	-1,142	0,987	1,340	1	0,247
mes=3	-2,081	1,043	3,980	1	0,046
mes=4	-0,667	0,707	0,888	1	0,346
mes=5	-2,095	0,779	7,237	1	0,007
mes=6	-1,895	1,019	3,462	1	0,063
mes=7	-2,449	0,799	9,395	1	0,002
mes=8	-1,001	0,719	1,940	1	0,164
mes=9	0,112	0,710	0,025	1	0,874
mes=10	-0,215	0,730	0,087	1	0,768
mes=11	0,499	0,720	0,481	1	0,488
hembra wt x macho con alas	-0,545	0,268	4,148	1	0,042
macho wt x macho con alas	0,728	0,231	9,977	1	0,002
genotipo hembra x mes			35,241	9	<0,001
hembra wt y mes=1	-0,189	0,586	0,104	1	0,747
hembra wt y mes=4	0,364	0,569	0,409	1	0,523
hembra wt y mes=5	0,686	0,773	0,788	1	0,375
hembra wt y mes=6	2,544	0,686	13,741	1	<0,001
hembra wt y mes=7	0,842	0,646	1,700	1	0,192
hembra wt y mes=8	1,157	0,603	3,680	1	0,055
hembra wt y mes=9	-0,199	0,644	0,095	1	0,758
hembra wt y mes=10	0,271	0,579	0,219	1	0,640
hembra wt y mes=11	0,236	0,556	0,180	1	0,671
alas x mes			29,207	11	0,002
macho alado y mes=1	-1,439	1,244	1,337	1	0,248
macho alado y mes=2	1,007	1,003	1,008	1	0,315
macho alado y mes=3	2,387	1,040	5,263	1	0,022
macho alado y mes=4	0,811	0,655	1,535	1	0,215
macho alado y mes=5	1,175	0,829	2,010	1	0,156
macho alado y mes=6	0,001	1,074	0,000	1	0,999
macho alado y mes=7	1,127	0,755	2,226	1	0,136
macho alado y mes=8	0,064	0,694	0,008	1	0,927
macho alado y mes=9	1,295	0,725	3,192	1	0,074
macho alado y mes=10	0,394	0,688	0,328	1	0,567
macho alado y mes=11	-0,383	0,676	0,321	1	0,571

Tabla 9.6: Modelo definitivo que ajusta a los valores de frecuencia de cópula en experimentos sin competición. Se presentan los coeficientes que presentan cada una de las variables según el valor que toman además de la significación del estadístico de Wald para cada uno de estos valores, lo que nos indica para cada variable que valor provoca cambios más significativos en la MF.

MODELO					VARIABLE					
variables en el modelo	-2log likelihood	Likelihood Ratio Test	gl	p	variable	coeficiente	error estandar	wald	gl	p
Modelo nulo	130,489									
talla macho	123,701	6,788	4	0,148	interseccion talla macho (5)	1,917	0,479	16,017 7,115	1 4	<0,001 0,130
talla hembra	127,741	2,748	4	0,601	interseccion talla hembra (5)	1,386	0,456	9,225 2,703	1 4	0,002 0,609
talla hembra, talla macho	119,285	11,204	8	0,190	interseccion talla hembra (5) talla macho (5)	1,301	0,650	4,001 4,358 8,292	1 4 4	0,045 0,360 0,081
talla hembra, talla macho, hembra x macho	98,483	32,007	24	0,127	interseccion talla hembra (5) talla macho (5) hembra x macho	21,203	16408,678	0,000 0,412 1,973 1,132	1 4 4 16	0,999 0,981 0,741 1,000
hora	125,113	5,376	5	0,372	interseccion hora (6)	21,203	14210,285	0,000 2,782	1 5	0,999 0,734
tanda	125,273	5,216	5	0,390	interseccion bloque (6)	2,485	0,736	11,400 4,971	1 5	0,001 0,419
cociente	123,318	7,172	4	0,127	interseccion cociente (5)	2,169	0,528	16,889 6,991	1 4	<0,001 0,136
talla hembra, talla macho, cociente	111,320	19,170	12	0,085	interseccion talla hembra (5) talla macho (5) cociente (5)	1,936	1,069	3,279 1,225 9,046 6,548	1 4 4 4	0,070 0,874 0,060 0,162

Tabla 9.7: Resumen de la regresión logística que mejor ajusta a los valores de MF de experimentos sin competición cuando, además de las variables que venimos considerando habitualmente, se puede evaluar también el efecto de la talla del macho y de la hembra.

	VALORES			Prueba t para muestras apareadas						Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon			
	MF media	p _{CC} femenina media	p _{CC} masculina media	p _{CC} femenina			p _{CC} masculina			p _{CC} femenina		p _{CC} masculina	
				t	gl	p	t	gl	p	Z	p	Z	p
♂wt/♂wt x ♀wt	0,886	0,782	0,948	3,842	34	0,001	-2,288	34	0,028	-3,407	0,001	-1,671	0,095
♂cv/♂cv x ♀wt	0,735	0,600	0,829	1,863	13	0,085	-1,337	13	0,204	-1,726	0,084	-0,910	0,363
♂wt/♂wt x ♀cv	0,639	0,736	0,916	-1,488	22	0,151	-4,258	22	<0,001	-1,308	0,191	-2,859	0,004
♂cv/♂cv x ♀cv	0,507	0,536	0,764	-0,442	22	0,663	-3,867	22	0,001	-0,152	0,879	-3,224	0,001
♂wt/♂cv x ♀cv	0,873	0,715	0,865	2,053	4	0,109	0,115	4	0,914	-1,214	0,225	-0,405	0,686
♂wt/♂wt sin alas x ♀wt	0,770	0,794	0,915	-0,616	26	0,543	-3,586	26	0,001	-0,264	0,792	-3,412	0,001
♂wt/♂cv sin alas x ♀cv	0,565	0,464	0,532	1,790	35	0,082	0,563	35	0,577	-1,697	0,090	-0,770	0,441
♂cv/♂wt sin alas x ♀cv	0,341	0,290	0,378	0,802	31	0,429	-0,553	31	0,584	-0,383	0,701	-0,785	0,432

Tabla 10.1: Comparaciones entre los valores de la frecuencia de cópula de la hembra recogidos en cada uno de los experimentos en que compiten dos machos con los valores de probabilidad de cópula cuando hay competición (p_{CC}) pronosticados. Se comparan las dos posibles p_{CC}, denominadas femenina y masculina según se considere que esta probabilidad es idéntica a la que mostraría la hembra en un experimento ante un único macho o si bien tiene que tener en cuenta la habilidad para fomentar la cópula de ambos machos. Se realizaron análisis paramétricos (prueba t) y no paramétricos (prueba de los rangos de Wilcoxon) en todas las posibles comparaciones.

				según la p _{CC} femenina		según la p _{CC} masculina	
		n	gl	$\sum (\text{Obs}-\text{Esp})^2/\text{Esp}$	p	$\sum (\text{Obs}-\text{Esp})^2/\text{Esp}$	p
AMBOS MACHOS IGUALES	♂wt/♂wt x ♀wt	213	69	32,672	1,000	98,223	0,012
	♂cv/♂cv x ♀wt	75	27	29,206	0,351	53,499	0,002
	♂wt/♂wt x ♀cv	127	45	68,032	0,015	422,598	<0,001
	♂cv/♂cv x ♀cv	149	45	52,566	0,204	138,891	<0,001
MACHOS DIFERENTES	♂wt/♂cv x ♀cv	37	9	3,608	0,935	10,951	0,279
	♂wt/♂wt sin alas x ♀wt	175	53	18,383	1,000	92,912	<0,001
	♂wt/♂cv sin alas x ♀cv	109	71	52,559	0,950	55,707	0,909
	♂cv/♂wt sin alas x ♀cv	171	63	115,554	<0,001	113,289	<0,001

Tabla 10.2: Comparación mediante el estadístico χ^2 del número de cópulas observadas en cada clase de experimento con competición con las frecuencias esperadas para cada una de ellas según empleemos para su cálculo la p_{CC} femenina o masculina. Se presentan los tipos de experimentos en dos bloques, según compitieron machos iguales o diferentes.

	n	gl	p _{CC} definida por la mayor de las p _{SC} de la hembra		p _{CC} definida por la media de las dos p _{SC} de la hembra		p _{CC} definida por la menor de las p _{SC} de la hembra	
			$\sum (\text{Obs}-\text{Esp})^2/\text{Esp}$	p	$\sum (\text{Obs}-\text{Esp})^2/\text{Esp}$	p	$\sum (\text{Obs}-\text{Esp})^2/\text{Esp}$	p
♂wt/♂cv x ♀cv	37	9	3,608	0,935	5,507	0,788	10,069	0,345
♂wt/♂wt sin alas x ♀wt	175	53	18,383	1,000	24,387	1,000	47,055	0,704
♂wt/♂cv sin alas x ♀cv	109	71	52,559	0,950	97,188	0,021	364,935	<0,001
♂cv/♂wt sin alas x ♀cv	171	63	115,554	<0,001	147,660	<0,001	220,971	<0,001

Tabla 10.3: Comparación mediante el estadístico χ^2 del número de cópulas observadas en cada clase de experimento con competición entre machos diferentes con las frecuencias esperadas para cada una de ellas según empleemos para su cálculo una u otra p_{CC} femenina. Recordemos que esta probabilidad cuando compiten dos machos iguales puede corresponderse con la mayor de las dos p_{SC} posibles, la menor de ellas o la media aritmética de ambas.

		según la p _{CC} femenina		según la p _{CC} masculina	
		n	gl	$\sum (\text{Obs}-\text{Esp})^2/\text{Esp}$	p
AMBOS MACHOS IGUALES	♂wt/♂wt x ♀wt	203	61	28,801	1,000
	♂cv/♂cv x ♀wt	72	25	28,528	0,284
	♂wt/♂wt x ♀cv	122	41	58,409	0,038
	♂cv/♂cv x ♀cv	149	45	52,566	0,204
MACHOS DIFERENTES	♂wt/♂cv x ♀cv	34	5	2,501	0,776
	♂wt/♂wt sin alas x ♀wt	166	45	13,487	1,000
	♂wt/♂cv sin alas x ♀cv	61	25	23,107	0,571
	♂cv/♂wt sin alas x ♀cv	148	39	84,319	<0,001

Tabla 10.4: Comparación mediante el estadístico χ^2 del número de cópulas observadas en cada clase de experimento con competición con las frecuencias esperadas para cada una de ellas según empleemos para su cálculo la p_{CC} femenina o masculina. En este caso solamente se comparan aquellas clases de experimentos en que se realizaron al menos cuatro experimentos.

MODELO		VARIABLES				
variables en el modelo	R ² corregido	variables	Suma de cuadrados	gl	F	p
genotipo hembra	0,004	Intersección	157504534,238	1	3329,276	<0,001
		genotipo hembra	327252,643	1	6,917	0,009
		error	72288076,756	1528		
genotipo macho	0,008	Intersección	144656548,493	1	3068,957	<0,001
		genotipo macho	592431,369	1	12,569	<0,001
		error	72022898,030	1528		
presencia de alas	0,086	Intersección	144511173,625	1	3328,041	<0,001
		alas	6266069,390	1	144,305	<0,001
		error	66349260,009	1528		
edad	0,001	Intersección	160816027,824	1	3385,403	<0,001
		edad	78589,007	2	0,827	0,437
		error	72536740,393	1527		
mes	0,032	Intersección	108205847,876	1	2353,857	<0,001
		mes	2833483,596	11	5,603	<0,001
		error	69781845,804	1518		
hora	0,001	Intersección	66694302,128	1	1404,594	<0,001
		hora	441227,719	9	1,032	0,411
		error	72174101,680	1520		

Tabla 11.1: Modelos de regresión con una única variable que pretenden ajustarse a los valores de CL de los experimentos sin competición. Se observan los seis modelos generados con el procedimiento GLM que consideran cada una de las posibles variables (genotipo del macho y de la hembra, presencia o ausencia de alas en el macho, edad de las moscas, hora del día o mes). Se presenta el R² corregido de cada una de estas regresiones además de la significación de la variable en el modelo

MODELO		VARIABLES				
Variables en el modelo	R ² corregido	variables	Suma de cuadrados	gl	F	p
genotipo hembra, genotipo macho, presencia de alas, edad, mes, hora	0,111	Intersección	53599280,522	1	1269,627	<0,001
		genotipo hembra	142040,677	1	3,365	0,067
		genotipo macho	316033,334	1	7,486	0,006
		alas	4219050,554	1	99,938	<0,001
		edad	21972,380	2	0,260	0,771
		mes	2082374,307	11	4,484	<0,001
		hora	646369,621	9	1,701	0,084
		Error	63493705,913	1504		
genotipo hembra, genotipo macho, presencia de alas, mes, hora	0,112	Intersección	54569687,346	1	1293,884	<0,001
		genotipo hembra	147089,932	1	3,488	0,062
		genotipo macho	305417,215	1	7,242	0,007
		alas	4283331,798	1	101,561	<0,001
		mes	2075500,828	11	4,474	<0,001
		hora	657918,098	9	1,733	0,077
		Error	63515678,294	1506		
genotipo hembra genotipo macho, presencia de alas, mes	0,108	Intersección	98352087,760	1	2321,880	<0,001
		genotipo hembra	137068,207	1	3,236	0,072
		genotipo macho	307307,106	1	7,255	0,007
		alas	4175014,622	1	98,563	<0,001
		mes	1840898,719	11	3,951	<0,001
		Error	64173596,392	1515		

Tabla 11.2: Efecto de ir descartando variables sobre el R² corregido de la regresión generada con el procedimiento GLM que trata de ajustar a los CL obtenidos en experimentos sin competición.

PRIMERA VARIABLE	SEGUNDA VARIABLE									
	genotipo hembra		genotipo macho		presencia de alas		mes		hora	
genotipo hembra			0,112	1	0,112	1	0,124	9	0,116	9
genotipo macho	0,112	1			0,113	1	0,115	10	0,111	9
presencia de alas	0,112	1	0,113	1			0,119	11	0,114	9
mes	0,124	9	0,115	10	0,119	11			0,122	72
hora	0,116	9	0,111	9	0,114	9	0,122	72		
	$R^2_{\text{corregido}}$	gl	$R^2_{\text{corregido}}$	gl	$R^2_{\text{corregido}}$	gl	$R^2_{\text{corregido}}$	gl	$R^2_{\text{corregido}}$	gl

Tabla 11.3: Evaluación del efecto de todas las posibles interacciones entre dos variables de las que resultan significativas de entre las consideradas en la regresión que pretende ajustar a los CL de los experimentos sin competición. En las casillas en que se cruzan la fila de la primera variable con la columna de la segunda variable se presenta el $R^2_{\text{corregido}}$ que da cuenta del efecto de la incorporación de la interacción de estas dos variables. Los mayores $R^2_{\text{corregidos}}$ los presentan las interacciones de la variable “mes” con “genotipo de la hembra” y “presencia de alas” y “hora”.

MODELO		VARIABLES				
Variables en el modelo	R ² corregido	variables	Suma de cuadrados	gl	F	p
genotipo hembra, genotipo macho, presencia de alas, edad, mes, hora, genotipo hembra x mes, presencia de alas x mes, mes x hora	0,143	Intersección	25345340,801	1	622,533	<0,001
		genotipo hembra	6264,590	1	0,154	0,695
		genotipo macho	346893,963	1	8,520	0,004
		alas	1224266,041	1	30,070	<0,001
		edad	11619,324	2	0,143	0,867
		mes	2229883,037	11	4,979	<0,001
		hora	300637,194	9	0,820	0,597
		genotipo hembra x mes	1175483,873	9	3,208	0,001
		presencia de alas x mes	1084475,897	11	2,422	0,006
		mes x hora	3891339,201	72	1,327	0,037
		Error	57487078,545	1412		

Tabla 11.4: Modelo definitivo que ajusta a los valores de tiempo de cópula (CL) obtenidos en experimentos sin competición. El modelo considera todas las variables y las tres interacciones más significativas de dos variables.

		Experimentos en cámara de apareamiento sin competición	Experimentos en cámara de apareamiento con competición	Experimentos en tubo con machos de dos genotipos distintos	Experimentos en tubo con distintas densidades de machos
mayo 2004	puesta 1	nombre n° experimentos			tanda 1
	puesta 2	nombre n° experimentos	tanda 1 8	tanda 1 5 76	
	puesta 3	nombre n° experimentos	tanda 2 16	tanda 2 28 .	0
junio 2004	puesta 4	nombre n° experimentos		tanda 2 76	
	puesta 5	nombre n° experimentos	tanda 3 44	tanda 3 14	
	puesta 6	nombre n° experimentos	tanda 4 42	tanda 4 13	
	puesta 7	nombre n° experimentos	tanda 5 20	.	tanda 3 75
julio 2004	puesta 8	nombre n° experimentos		tanda 4 8	tanda 2
	puesta 9	nombre n° experimentos		tanda 5 47	
Septiembre 2004	puesta 10	nombre n° experimentos			tanda 3
abril 2005	puesta 11	nombre n° experimentos	tanda 6 26		

Calendario A: Calendario de trabajo de los experimentos de la primera parte (efecto de la talla sobre el éxito reproductivo)

	MESES												TOTALES POR TIPO
	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SEP	OCT	NOV	DIC	
♂wt x ♀wt	79			153	16	148	48	55	128	34	80	24	765
♂wt sin alas x ♀wt	8			22			33	63	47	14	28	16	231
♂cv x ♀wt	58			16			8			72	63	4	221
♂cv sin alas x ♀wt				52	10					20	16	8	106
♂wt x ♀cv	8	10	93	28	9	27	12	8	7	37	38	35	312
♂wt sin alas x ♀cv		11		53		20	54	76	83	24	10		331
♂cv x ♀cv	61	34	23	28	8	3	18	20		30	80	50	355
♂cv sin alas x ♀cv			18	57	111	5		9	108	9	16		333
♂wt/♂wt x ♀wt	27					70	4	51		16	45		213
♂cv/♂cv x ♀wt	19									9	39	8	75
♂wt/♂wt x ♀cv	38							27		24	38		127
♂cv/♂cv x ♀cv	51							51		11	36		149
♂wt/♂cv x ♀cv	37												37
♂wt/♂wt sin alas x ♀wt	8								15	49	71	32	175
♂wt/♂cv sin alas x ♀cv					28	43		17			8	13	109
♂cv/♂wt sin alas x ♀cv	12					111	20			4	4	20	171
TOTALES POR MES	406	55	134	409	182	427	197	377	388	361	572	210	

Calendario B: Experimentos de la segunda parte (se puede asegurar que la hembra elige pareja)

AUTOR	RECINTO	TIPO DE CRUCE	PERIODO DE OBSERVACION	HORARIO	TEMPERATURA	VARIACION DEL TAMAÑO	VARIABLE(s) CONSIDERADA(s)
Ewing (1961)	tubo (5cm x 2,5 cm Ø)	(5♂a+5♂b) x 5♀ (a o b)	Hasta que se dan 45 cópulas	Mañana	28°C	Líneas seleccionadas	Tiempos de ejecución de partes del cortejo
Ewing (1964)	tubo (250ml)	50♂ x 50♀	No indicado	No indicado	No indicado	Líneas seleccionadas, distintas temperaturas	Frecuencia (MF) de cada tipo según transcurre el tiempo
Ewing y Ewing (1984)	placa (2,5cm x 7 cm Ø)	4♂ x 4♀; 4♂ x 2♀	14 minutos	Mañana	25°C	Natural	Tiempos de ejecución de partes del cortejo
	placa (2,5 x 1 x 0,5 cm)	1♂ x 1♀					
Friberg y Arnqvist (2003)	tubo (17 cm x 2,5 cm Ø)	1♂ x 1♀; 2♂ x 1♀	Toda la vida de la hembra	No indicado	No indicado	Calidad de la comida	Valores de fitness de la hembra y su descendencia; ocasionalmente CI y MF
Reeve y col. (2000)	tubo (sin dimensionar)	(7♂ st + 3 ♂ wt) x 10♀ st	Toda la vida del macho	No indicado	18 y 25° C	Líneas seleccionadas	Genotipo de la descendencia
Casares y col (1992)	tubo (8,5 cm x 1,7 cm Ø)	2♂ x 1♀	30 minutos	Mañana	22°C	Natural	CL
Casares y col (1993)	tubo (8,5 cm x 1,7 cm Ø)	2♂ x 1♀	30 minutos	Mañana	22°C	Natural	CL
Piñeiro y col. (1993)	tubo (8,5 cm x 1,7 cm Ø)	2♂ x 1♀	30 minutos	Mañana	22°C	Natural	CL
Casares y col (1998)	tubo (8,5 cm x 1,7 cm Ø)	2♂ x 1♀; 1♂ x 2♀	20 o 30 minutos	Mañana	22°C	Natural	CL
	placa (0,8cm x 9,2 cm Ø)	2♂ x 2♀	30 minutos				Frecuencia (MF) de cada tipo de cruce
Partridge y Farquhar (1983)	tubo (sin dimensionar)	1♂ x 0, 1 u 8 ♀/día	Toda la vida del macho	No indicado	No indicado	Densidad de larvas sin controlar	nº hembras fecundadas
		2♂ x 1♀	Toda la vida del macho				ML medio
Partridge, Ewing, Chandler (1987)	placa (1,6 cm x 7,6 mm Ø)	1♂ x 1♀	3 minutos	Mañana	No indicado	Natural	Características de la canción nupcial
Scott (1994)	placa (0,3 cm³)	1♂ x 1♀; 2♂ x 1♀	20 minutos	No indicado	No indicado	Natural	CL, MF, CI
Sharp (1984)	tubo (250ml)	(25♂st + 25 ♂wt) x 50♀st	5 horas	No indicado	25°C	Natural (líneas endogámicas)	Genotipo de la descendencia (hembras separadas)
Joshi y col (1999)	tubo (9,5cm x 2,5 cm Ø)	hasta 30♂ x 30H	14 horas	No indicado	No indicado	Natural	MF
Wilkinson (1987)	caja (11 x 17 x 5 cm)	40H frente a machos desde 1,75Mx1♀ a 12Mx1♀	4 horas	No indicado	No indicado	Natural	MF (categorías de edad)
	tubo (7,5cm x 2,5 cm Ø)						Talla de los machos de la descendencia
Markow y Sawka (1991)	No indicado	5♂ x 5♀	30 min cada hembra	Mañana	24°C	Natural	MF

Tabla A: Experimentos en la bibliografía similares a los que realizamos nosotros

Autor	Modo de cultivo	Tipo de medición	Coefficiente de variación
Zamudio y col (1993)	Control de larvas exhaustivo	Peso	1%
Partridge y Farquhar(1983)	Variación en la calidad de la comida	Tórax	3-4% comida buena 7-8% en comida empobrecida
Wilkinson (1987)	Población	Ala completa	6%
Markow y Sawka (1991)	Población	Tórax	4%
Partridge, Hoffmann y Jones (1987)	Población	Ala	5 al 8%
	Naturaleza	Ala	11%
Markow (1988)	Naturaleza	Tórax	del 7 al 20%
Nosotros	Población	Ala	6%

Tabla B: Medidas de la talla de las moscas en la bibliografía frente a las que obtuvimos nosotros

Autor	Recinto	Tiempo de observación	Tipo de cruce	CL	notas	
Ewing y Ewing (1984)	cámara cuadrada (2,5 x 1 x 0,5cm)	14 min	1♂ x 1♀	130s		
	cámara (2,5cm x 7 cm Ø)		4♂ x 4♀	400s		
			4♂ x 2♀	511s		
Scott (1994)	cámara (0,3 cm³)	20 minutos	1♂ x 1♀	420s	Moscas normales Canton-S	
			2♂ x 1♀	540s		
Casares y col (1992)	tubo (8,5 cm x 1,7 cm Ø)	30 minutos	2♂ x 1♀	desde 417 a 856 s	Machos de dos propensiones	
Casares y col (1993)	tubo (8,5 cm x 1,7 cm Ø)	30 minutos	2♂ x 1♀	desde 147 a 685 s	Hembras de dos propensiones	
Casares y col (1998)	tubo (8,5 cm x 1,7 cm Ø)	30 minutos	2♂ x 1♀	desde 227s a 40min	Moscas normales de diferentes poblaciones	
Veille y Mazeu 1988	tubo (27cm³)	30 minutos	1♂ x 1♀	86s	Moscas silvestres	
Crossley y Wallace (1987)	cámara (4 mm x 15 cm Ø)	30 minutos	1♂ x 1♀	175s	Mutantes sepia	
			2♂ x 1♀	240s		
Nosotros	cámara (1,4 x 6,8 cm Ø)	15 minutos	1♂ x 1♀	277s		
			2♂ x 1♀	264s		
			1♂ x 1♀	322s		Mutantes cv2
			2♂ x 1♀	293s		Mutantes cv2

Tabla C: Valores de tiempo hasta la cópula (CL) recogidos en la bibliografía frente a los que obtuvimos nosotros

Autor	Recinto	Tiempo de observación	Tipo de cruce	MF	notas
Scott (1994)	cámara (0,3 cm ³)	20 minutos	1♂ x 1♀	40 al 60%	
			2♂ x 1♀	97%	
		1 hora	1♂ x 1♀	13%	sin alas
Casares y col (1992)	tubo (8,5 cm x 1,7 cm Ø)	30 minutos	2♂ x 1♀	70 al 85%	Machos de dos propensiones
Casares y col (1998)	tubo (8,5 cm x 1,7 cm Ø)	30 minutos	2♂ x 1♀	60 al 90%	Moscas normales de diferentes poblaciones
Veille y Mazeu 1988	tubo (27cm ³)	30 minutos	1♂ x 1♀	63%	Moscas silvestres
Ewing (1964)	gran cámara	15 minutos	50♂ x 50♀	aprox 40%	
			50♂ x 50♀	aprox 10%	sin alas
Nosotros	cámara (1,4 x 6,8 cm Ø)	15 minutos	1♂ x 1♀	81%	
			2♂ x 1♀	89%	
			1♂ x 1♀	53%	sin alas
	tubo (9 x 2,2 cm Ø)	1 día	2♂ x 1♀	55%	hembra y un macho cv2
		4 días	2♂ x 1♀	93%	hembra y un macho cv2
		2 días	1♂ x 1♀	72%	

Tabla D: Valores de frecuencia de cópula (MF) recogidos en la bibliografía frente a los que obtuvimos nosotros